LA CELLULE

LA CELLULE

RECUEIL
DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

FONDÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

PUBLIÉ PAR

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,

A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

TOME XXI

1er FASCICULE

I. La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cineses somatiques,
par Victor GRÉGOIRE & A. WYGAERTS.

II. La structure du spermatozoïde de l'Helix pomatia,
par A. BOLLES LEE.

III. Étude sur les histones,
par Fernand MALENGREAU.

IV. La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogénèse végétale,
par Jules BERGHS.

V. La figure achromatique dans le Pellia epiphylla,
par Victor GRÉGOIRE & Jules BERGHS.

Prix : 25 francs.

LIERRE
TYP. DE JOSEPH VAN IN & Cie,
Grand'place, 38.

LOUVAIN
A. UYSTPRUYST, LIBRAIRE,
rue de la Monnaie.

1904

1960

La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes

DANS LES CINÈSES SOMATIQUES

I. Racines de Trillium grandiflorum et télophase homœotypique dans le Trillium cernuum

PAR

Victor GRÉGOIRE
PROFESSEUR DE BOTANIQUE
ET DE CYTOLOGIE
A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN

&

A. WYGAERTS
DOCTEUR
EN SCIENCES NATURELLES

(*Mémoire déposé le* 1er *mai* 1903.)

Reconstitution du noyau et formation des chromosomes dans les cinèses somatiques

I. RACINE DE TRILLIUM GRANDIFLORUM ET TÉLOPHASE HOMŒOTYPIQUE DANS LE TRILLIUM CERNUUM

INTRODUCTION.

1. *Objets d'étude.*

En reprenant l'étude de la cinèse somatique dans les végétaux, notre première intention était de chercher à élucider, par des moyens d'investigation appropriés, l'évolution du nucléole. Mais notre attention fut bientôt détournée de ce but et attirée par certaines images, qui, dans la figure chromatique, semblaient s'écarter assez considérablement du schéma généralement admis par les botanistes. Nous nous sommes alors attachés à reprendre point par point toute la série des stades de la télophase et de la prophase, dans le but de répondre, pour ce qui concerne nos objets, aux questions suivantes. Comment le noyau se reforme-t-il aux dépens des chromosomes de la couronne polaire? Comment les chromosomes de la prophase, à leur tour, s'édifient-ils à l'aide de la structure nucléaire du repos? Par conséquent, qu'est-ce que le noyau? Qu'est-ce qu'un chromosome dans le *Trillium?* Enfin, comment s'opère, dans le détail, la division longitudinale des bâtonnets?

Nous ne nous arrêterons pas à montrer que ces différents points méritaient de nouvelles recherches. Plusieurs observateurs ont déjà fait remar-

quer l'insuffisance de nos données sur la cinèse somatique (entre autres, SCHAFFNER, 98, HOF, 98). Nous dirons seulement, dès maintenant, que nous sommes arrivés, dans notre étude, à des conclusions très différentes de celles de nos devanciers.

Nos recherches ont été faites sur différents objets : le méristème des racines de quelques *Allium*, *A. ascalonicum*, *A. cepa*, *A. porrum*; de l'*Ornithogalum umbellatum*, du *Trillium grandiflorum*; nous avons étudié aussi la télophase homœotypique (*) du *Trillium cernuum*. Parmi ces objets, les deux *Trillium* occupent un rang tout à fait privilégié : grâce au nombre restreint de leurs chromosomes (nombre normal = 12) et aux dimensions considérables de ces derniers, les phénomènes de la télophase et de la prophase s'y montrent avec une clarté et une évidence exceptionnelles. D'autre part, cependant, les divers *Allium* et l'*Ornithogalum* présentent l'avantage de s'écarter moins que le *Trillium*, *dans les apparences*, des descriptions données par les autres botanistes et de permettre par conséquent une critique plus pénétrante. Il eût donc été préférable de publier en un seul mémoire l'ensemble de nos résultats. Néanmoins, pour des raisons d'opportunité, nous nous sommes décidés à ne décrire maintenant que le *Trillium*. Mais nous tenons à prévenir le lecteur que les phénomènes sont essentiellement identiques dans les divers objets que nous avons étudiés et que toutes nos discussions bibliographiques s'appuient sur l'ensemble de nos recherches.

Nous nous permettons d'engager vivement le lecteur à faire quelques coupes de racines de *Trillium*. Nos dessins ont été exécutés par un crayon très habile (**); mais les images sont si belles et si élégantes que la plus minutieuse reproduction n'en peut donner qu'une faible idée.

2. *Méthodes.*

Nous ne dirons qu'un mot de nos méthodes de préparation et d'observation. Tous les matériaux qui ont servi à ce travail ont été fixés par la liqueur de HERMANN. Les coupes, de 5 à 7 1/2 μ, ont été colorées surtout par l'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN, avec ou sans emploi préalable de rouge Congo ou d'éosine; d'autres ont été traitées par la safranine et le vert

(*) Nous employons cette expression dans le sens défini par STRASBURGER (00), pour désigner la seconde cinèse de maturation.

(**) C'est un de mes élèves, M. J. BERGHS, qui a bien voulu se charger de ce travail délicat; je tiens à l'en remercier cordialement. V. G.

lumière (BENDA); d'autres enfin, — les coupes d'anthère, — par l'hématoxyline de DELAFIELD.

La méthode de BENDA présente des avantages au point de vue de la différentiation des parties achromatiques. Mais pour l'étude des détails fins des structures chromatiques, nous préférons la coloration noire et mate d'HEIDENHAIN à la teinte rouge brillant de la safranine.

3. *Division du travail.*

Nous étudierons dans une *première partie* les cinèses méristématiques de la racine de *Trillium grandiflorum;* dans une *seconde partie*, nous décrirons la télophase homœotypique des microsporocytes du *Trillium cernuum;* enfin, nous réserverons pour une *troisième partie* quelques questions complémentaires, dont la solution s'éclairera d'éléments empruntés aux deux premières sections.

PREMIÈRE PARTIE.

Cinèses méristématiques du Trillium grandiflorum.

Nous diviserons notre description en trois chapitres ayant pour objet : le noyau au repos, la télophase, la prophase.

Si nous commençons par l'examen direct du noyau quiescent, ce n'est pas que nous prétendions en retirer des données tout à fait certaines sur son organisation. C'est, en effet, à l'observation de la télophase que nous demanderons de nous en rendre compte définitivement. C'est pourquoi nous prions le lecteur de ne pas considérer les renseignements que nous fournira l'étude directe du noyau, indépendamment de ceux que nous apportera l'examen de la télophase. En commençant par le premier de ces deux points, notre but est surtout de rappeler les principales questions que soulève l'étude de la structure du noyau et d'éclairer ainsi notre description de la télophase et de la prophase.

Chapitre I.

Noyau au repos (*).

1. *Élément chromatique.*

Les trois types auxquels se rattachent les différentes structures que l'on a décrites pour l'élément nucléinien du noyau sont, comme on le sait : les structures réticulée, alvéolaire et granulaire.

La plupart des cytologistes botanistes reconnaissent à l'élément chromatique une véritable *structure réticulée*, comportant un réseau de *filaments*. Parmi les auteurs qui s'arrêtent à analyser de plus près ce réseau véritable, le plus grand nombre s'accordent sur les deux points suivants.

(*) Nous ne nous occuperons pas des nucléoles dans ce travail.

D'abord, ils considèrent le réticulum nucléaire comme formé d'un filament replié sur lui-même et dont les replis sont latéralement anastomosés. C'est ce qu'exprime STRASBURGER (1902) de la façon suivante : « Der Zellkern « weist Fäden auf, deren Schlingen durch einander gewunden und durch « seitliche Brücke mit einander verbunden sind. Der Zellkern stellt somit « ein zartes Gerüstwerk vor. »

Ensuite, ces auteurs admettent que l'on peut, régulièrement, distinguer dans le réseau deux constituants *chimiquement* et *morphologiquement* différents, ou mieux deux constituants morphologiques d'une nature chimique différente : une sorte de charpente filamenteuse-réticulée, achromatique, plastinienne ou lininienne, et, attachées à ce substratum, fixées sur lui, mais indépendantes de lui, des granulations, — ou corpuscules, — nucléiniennes ou chromatiques.

ZIMMERMANN (96) caractérise très bien cette structure en l'appelant du nom que nous venons de lui emprunter, *fädig-netzartig*.

La structure *alvéolaire* n'a pas été, que nous sachions, décrite dans les noyaux des métaphytes. Dans les objets où il la signale, BÜTSCHLI est d'avis que les corpuscules chromatiques sont logés aux points nodaux d'une charpente alvéolaire achromatique.

Enfin, la structure *granulaire* a été décrite, entre autres, par ZIMMERMANN (96) : cet auteur l'observerait dans des noyaux âgés, tandis que les noyaux jeunes montreraient une structure filamenteuse-réticulée.

Ces trois descriptions représentent, pour ainsi dire, les types classiques. Récemment, VAN WISSELINGH (99) a émis une opinion particulière. D'après lui, l'élément chromatique est formé *simplement* de parties plus épaisses, très irrégulières et très diverses, réunies entre elles par des portions plus minces. De plus, ces deux sortes de parties du réseau nucléaire ne sont pas des constituants morphologiques différents. L'auteur, en effet, tout en réservant la question de la nature chimique du réseau, n'admet pas la distinction morphologique entre substratum achromatique et corpuscules nucléiniens.

Venons-en à nos propres observations. ROSEN (95), NEMEC (99) et HOTTES (01) ont déjà fait remarquer que l'on n'observe pas une organisation tout à fait identique dans tous les noyaux d'un sommet végétatif de racine. La même remarque s'applique au *Trillium*. Seulement, il importe de le faire ressortir, il ne s'agit pas, *ici*, d'établir des *types* de structure nucléaire.

Les dispositions diverses que l'on observe ne présentent pas des divergences bien considérables et, de plus, sont reliées par une série continue de formes intermédiaires.

Nous décrirons, en premier lieu, l'organisation des noyaux que l'on rencontre surtout dans la portion centrale(*) du méristème, FIG. 5 et 6. L'élément nucléinien s'y montre, à première vue, constitué de parties plus épaisses réunies par des tractus plus minces. D'abord, rien ici ne ressemble à une structure granulaire. Ensuite, à un examen plus attentif, il est facile de reconnaître, dans ce réseau apparent, l'existence, en plusieurs régions, d'une véritable *organisation alvéolaire*. On ne pourrait mieux se figurer la structure de ces endroits qu'en se représentant une masse chromatique creusée de cavités. Ces cavités, très serrées les unes contre les autres, sont souvent sphériques, ou du moins arrondies aux points nodaux, mais, souvent aussi, polyédriques. Dans le premier cas, la structure alvéolaire est patente. Dans le second, il n'est pas facile de dire toujours si on est bien en présence de vraies alvéoles, c'est-à-dire de cavités fermées de toutes parts; mais il est clair, tout au moins, que la trame est formée en ces endroits, non pas de filaments, mais de lamelles très aplaties et, pour ainsi dire, de débris de membranules alvéolaires, constituant une structure qu'on pourrait appeler *spongieuse* (**).

D'autre part, à côté de ces plages alvéolaires ou spongieuses, il existe aussi, dans le même noyau, de *vrais filaments*, qui disparaissent rapidement à la vue, lorsqu'on tourne la vis micrométrique. La structure du noyau est donc *à la fois alvéolaire et réticulée*, bien que, nous devons l'ajouter, le noyau présente plutôt dans son ensemble un aspect alvéolaire (***).

En distinguant dans un même noyau ces deux dispositions de l'élément chromatique, alvéolaire et réticulée, nous n'entendons pas dire qu'il y ait une limite précise entre les régions alvéolaires et les régions réticulées; ces deux structures sont intimement mélangées. C'est pourquoi, à première vue, l'organisation du noyau paraît homogène dans toutes ses parties.

(*) Nous comprenons sous ce nom le plérome et la plus grande partie du périblème.

(**) Nous emploierons à l'avenir la dénomination *alvéolaire* dans un sens un peu élargi, pour désigner une structure soit réellement alvéolaire, soit spongieuse.

(***) Malgré cette concomitance des deux dispositions dans un même noyau, nous emploierons néanmoins, suivant l'usage des auteurs allemands (entre autres, ZIMMERMANN, 96), la dénomination de *réseau* pour signifier l'élément chromatique du noyau.

De ce que nous venons de dire résulte encore une autre donnée touchant le réseau nucléinien de ces noyaux, c'est qu'on ne peut pas le considérer comme « fädig-netzartig », c'est-à-dire comme filamenteux au sens de STRASBURGER.

Enfin, dans l'organisation que nous venons de décrire, il est impossible de discerner deux constituants morphologiques différents, un substratum achromatique et des corpuscules nucléiniens autonomes (*). D'abord, le réseau se colore nettement de la même façon dans toute son étendue. Tout est franchement chromatique et cela dans des préparations à l'HEIDENHAIN très soigneusement différenciées, dans lesquelles le cytoplasme n'a retenu aucune coloration. De plus, la morphologie même des parties épaisses qui devraient représenter des corpuscules autonomes est très démonstrative. Ces parties épaisses ne sont en aucune façon distinctes des tractus minces. Au contraire, elles fusent pour ainsi dire graduellement en ces derniers, FIG. 5 et 6. Tout le réseau a l'aspect d'une matière visqueuse étirée en lamelles, en filaments réunis entre eux en un réseau. Nous ne pourrions mieux fixer par une image l'aspect de cette structure qu'en la comparant à certains collenchymes. Les granulations apparentes ne sont ainsi, *à toute évidence*, que des parties plus épaisses d'une trame unique, alvéolo-réticulée, et qui constituent soit des points nodaux du réseau, soit des lamelles ou membranules, ainsi que cela a lieu dans toute structure alvéolaire ou réticulée formée par une substance semi-fluide.

Telle est la constitution des noyaux dans la portion centrale de la racine. Dans les parties périphériques et aussi dans la région sous-méristématique, on rencontre des noyaux un peu différents, FIG. 7 et 8.

D'abord, il est plus difficile de voir si le réseau, — ici encore la structure n'est pas granulaire, — possède une organisation alvéolaire ou réticulée. Cette dernière structure semble, surtout dans les noyaux sous-méristématiques, être devenue prépondérante. Cependant on y observe encore sinon des membranules d'alvéoles, du moins beaucoup de lamelles. La structure, en tous cas, n'est pas, ici non plus, filamenteuse-réticulée : on n'y observe, en effet, aucune ligne maîtresse quelconque. De plus, la

(*) Nous ne parlons ici que de constituants morphologiques et ne nous occupons pas de la constitution chimique du réseau. Peut-être celui-ci est-il formé de plusieurs substances chimiques, les unes achromatophiles, les autres chromatophiles. Nous voulons simplement dire ici que, si ces substances différentes existent réellement, du moins elles ne sont pas, dans notre objet, réparties en deux organites morphologiquement distincts.

trame elle-même est plus mince, ce qui donne un relief plus apparent aux renflements nodaux et leur donne davantage un aspect de granulations autonomes. Il est, cependant, ici encore, tout à fait clair qu'il s'agit, ainsi que nous venons de l'exprimer, de *renflements nodaux*, dont on poursuit aisément le prolongement dans les parties plus minces.

Nous pouvons donc résumer la description que nous venons de faire en disant que dans les noyaux méristématiques et sous-méristématiques du *Trillium* le réseau nucléaire est alvéolaire-réticulé, ou peut-être parfois simplement réticulé, mais jamais réticulé-filamenteux : ce réseau est formé d'une trame homogène, entièrement chromatique, mais présentant des renflements qui peuvent *simuler* des granulations autonomes. Si l'on compare les données qui précèdent (*) avec les renseignements de la littérature botanique, on voit qu'elles ne se rapprochent guère que des observations de VAN WISSELINGH (99, p. 158), avec lesquelles elles concordent parfaitement. Néanmoins certaines figures d'autres auteurs nous semblent assez favorables à notre interprétation, telles la fig. 16 de ZIMMERMANN (96, p. 40), la fig. 13 de NEMEC (99), les fig. 3 et 4 de ZACHARIAS (95).

2. *Membrane nucléaire.*

Tous les noyaux possèdent une membrane très nette, — ainsi que l'admettent d'ailleurs presque tous les botanistes, — et tout à fait achromatique. De contour circulaire au sein de la zone méristématique, elle se montre au contraire toujours plus ou moins bosselée dans la partie inférieure de cette zone et dans la région sous-méristématique, FIG. 8, dont les noyaux sont parfois très polymorphes.

3. *Caryoplasme et enchylème (suc) nucléaire.*

Le réseau chromatique plonge dans un enchylème réfringent et demeurant tout à fait incolore sous les réactifs que nous avons employés. On ne distingue dans cet enchylème aucun autre élément filamenteux ou granulaire que le réseau nucléinien lui-même. Nous n'y retrouvons aucune formation qui rappelle le caryoplasme de CARNOY, la lanthanine de HEIDENHAIN, l'œdématine de REINKE.

(*) Nous rappelons que nous ne les proposons pas ici comme tout à fait définitives. Elles doivent être appuyées par l'étude de la télophase.

Chapitre II.

Télophase.

Nous pouvons résumer de la façon suivante, d'après Strasburger, 02, le schéma de la télophase, auquel se rallient la majorité des botanistes.

Lorsque la membrane nucléaire s'est formée autour des chromosomes, ceux-ci se réunissent bout à bout les uns aux autres en un spirème-fille continu. Ce dernier s'allonge beaucoup en s'amincissant. Des anastomoses se produisent entre les nombreux replis du filament nucléinien et transforment celui-ci en un réseau. Les granulations chromatiques, qui étaient devenues indistinctes dans les chromosomes durant le mouvement cinétique, se dégagent de nouveau et se répandent sur le réseau naissant.

Les observations que nous avons faites sur le *Trillium* nous ont conduits à une interprétation notablement différente de ce schéma, mais hâtons-nous de dire dès maintenant que nous trouverons plus loin, non seulement dans la littérature zoologique, mais aussi dans les travaux botaniques, des confirmations importantes de la description que nous allons commencer.

Nous classerons les phénomènes sous certaines rubriques, mais sans vouloir indiquer par là une sériation chronologique de stades successifs.

§ I. Tassement polaire.

Mottier (97), Hof (98) et Strasburger (00) ont déjà montré, dans plusieurs objets, que la forme des chromosomes-filles des cinèses somatiques durant l'anaphase ne répond pas au schéma de Belajeff (98), admettant pour tous les bâtonnets une disposition en **U** résultant d'une insertion médiane au fuseau. Il en est de même dans le *Trillium*. La forme la plus fréquente, fig. **1**, est celle d'un **V** incomplet, formé d'une grande et d'une petite branche.

Lorsqu'ils sont parvenus au pôle, les bâtonnets se montrent, en règle générale, pressés étroitement les uns contre les autres. On distingue encore cependant leurs limites latérales et on reconnait surtout leur individualité dans les extrémités équatoriales, faisant sur la masse des saillies plus ou moins accusées, fig. **2** et phot. **1**. Nous désignons cet aspect caractéristique

sous le nom de *tassement polaire* (*). Nous pensons en effet que cette apparence est naturelle. Elle se retrouve dans des coupes qui, par ailleurs, montrent une excellente fixation. De plus, de nombreux auteurs l'ont rencontrée et décrite dans les objets les plus divers, tant animaux que végétaux, fixés d'après des méthodes variées. Citons : FLEMMING, 82, fig. 45, NEMEC, 99, p. 330, HOF, 98, p. 171, SCHAFFNER, 01, fig. 59, 60, 86, COKER, 02, fig. 1 et 2, VAN WISSELINGH, 99, p. 170, BOLLES LEE, 97, fig. 28, MEVES, 97, fig. 62.

Ce tassement polaire s'explique d'ailleurs facilement. D'une part, le fuseau (dépourvu dans le *Trillium* de tout corpuscule central ou centrosphère) est terminé en un cône assez étroit. D'autre part, la vésicule nucléaire, dans cet objet, ne se forme pas avant que les bâtonnets ne soient parvenus au pôle. Ceux-ci tendent donc à s'amasser vers la pointe étroite du fuseau et il en résulte, comme l'a déjà fait remarquer HOF (98, p. 171), qu'ils *doivent* venir en contact intime sur leurs côtés (**).

§ II. Apparition de l'enchylème nucléaire; formation des anastomoses.

C'est en ce moment que l'on voit apparaître, entourant et baignant l'ensemble chromosomique, le liquide (***) qui constituera l'enchylème du futur noyau. Il augmente rapidement, déterminant, comme nous le verrons, la formation de la vacuole nucléaire et de sa membrane. D'autre part, une fois que les bâtonnets se sont groupés au pôle, la force cinétique, — pour ainsi parler, — qui jusqu'alors les dominait, cesse d'agir. Le fuseau, en effet, se dissocie et rentre dans le protoplasme général. Les bâtonnets deviennent donc libres de cette action centralisatrice qui les maintenait tassés les uns contre les autres.

(*) Le tassement polaire ne présente pas toujours l'aspect que montrent notre FIG 2 et notre PHOT. 1. Souvent en effet les bâtonnets subissent déjà en ce moment les transformations internes que nous décrirons plus loin

(**)- Ajoutons toutefois que peut-être, sous l'action de certains réactifs, l'amas chromosomique polaire pourrait subir une sorte de coagulation arrivant jusqu'à fusionner latéralement entre eux les différents chromosomes. Mais le tassement lui-même, que nous observons d'ailleurs, en général, sans cette fusion, est un phénomène naturel.

(***) En employant cette dénomination, nous ne voulons naturellement pas signifier que cette substance est tout à fait fluide On sait, en effet, que le suc nucléaire est, d'après FLEMMING, 82, p. 175, « eine weich-gelatinose Mass », et que, d'après STRASBURGER, 84, p. 248, « der Kern-« saft eine ziemlich dickflüssige Substanz reprasentiert ». C'est aussi d'un semblable liquide que nous voulons parler. Nous dirons, plus loin, quelques mots sur la question de son origine.

De cette double modification des circonstances, il résulte que les chromosomes, *déjà en train de subir les transformations internes dont nous parlerons plus tard*, se détendent et s'écartent les uns des autres dans le liquide de la cavité nucléaire qui se forme, FIG. 3 et 4.

C'est en ce moment qu'apparaissent les *anastomoses* entre les bâtonnets. La formation et la nature de ces dernières sont encore inexpliquées. On ne trouve d'ailleurs qu'assez peu de données à leur sujet dans la littérature.

Beaucoup d'auteurs mentionnent simplement leur apparition. Les observateurs qui les décrivent de plus près s'accordent à les considérer comme poussées pour ainsi dire, par les chromosomes, sous la forme de prolongements latéraux de plus en plus développés : BOVERI, 87, p. 819, NEMEC, 99, p. 330, VAN WISSELINGH, 99, p. 170.

Nous croyons que le tassement polaire, — et c'est là son importance, — permet d'expliquer d'une façon plus plausible l'origine et la nature de ces anastomoses. En effet, tandis qu'on ne se rend pas facilement compte de ce « bourgeonnement » rapide des chromosomes pour former ces liens latéraux, la production de ceux-ci va, au contraire, nous apparaître comme d'un mécanisme très simple par suite du tassement polaire, dont ils sont une conséquence naturelle.

Examinons d'abord de plus près ces anastomoses. Ainsi que le montrent les FIG. 3 et 4, elles sont constituées par des filaments d'épaisseur variable, *tendus* d'un chromosome à l'autre. Nettement chromatiques, prenant très franchement, aussi bien que les chromosomes eux-mêmes, l'hématoxyline et la safranine, elles sont distribuées très capricieusement sur la longueur des bâtonnets. Leur forme est souvent caractéristique : elles sont comme dilatées aux points où elles s'amorcent à deux chromosomes voisins ou aux deux branches d'une même anse, et étirées dans leur portion médiane; ou, pour mieux dire, le chromosome, à l'endroit où s'insère l'anastomose, a comme subi une traction; sa substance fait une saillie en cône, qui s'amincit en se prolongeant dans l'anastomose elle-même (*).

Cela étant, nous admettons que ces liens latéraux entre les bâtonnets sont le résultat d'un phénomène analogue à celui qui se passe lorsque deux corps gélatineux, mis assez intimement en contact, sont ensuite graduellement écartés l'un de l'autre. Dans ce cas, il reste, entre les deux corps, des filaments d'union qui ne sont pas autre chose que de la substance gélatineuse étirée. De même, les anastomoses que nous étudions maintenant

(*) Comparez NEMEC, 99, fig. 29 et 32.

ne sont que de la substance chromosomique étirée entre deux bâtonnets qui s'écartent l'un de l'autre après un contact assez étroit.

Cette explication se recommande d'abord par son caractère naturel : les choses *doivent* se passer ainsi. Les chromosomes, en effet, possèdent sur le vivant une consistance assez gélatineuse (*). Or, ils se sont trouvés durant le tassement polaire en contact intime. Il est donc naturel, il est nécessaire que leur écartement subséquent au sein de la vacuole nucléaire amène la formation d'anastomoses, qui ne sont autre chose que de la substance chromosomique étirée.

Notre interprétation concorde de plus avec les caractères que nous avons reconnus plus haut aux anastomoses, leur chromaticité, leur distribution irrégulière et *surtout* leur forme : ces filaments d'union, *tendus* et *effilés* dans leur portion médiane de la façon que nous avons décrite, mettent pour ainsi dire sous les yeux l'étirement de la substance chromosomique.

Enfin, nous trouvons encore une confirmation dans l'examen des anastomoses qui, dans certains objets, au début de l'anaphase, relient l'un à l'autre les chromosomes-sœurs déjà écartés : elles sont absolument semblables à celles que nous décrivons maintenant, et d'autre part ne peuvent pas avoir d'autre origine que celle que nous venons d'exposer. Meves (96) donne de beaux exemples de ce phénomène, fig. 56, 57, 58.

Nous avons insisté assez longuement sur cette question des anastomoses. C'est qu'en effet elle offre une certaine importance pour se faire une idée nette de l'origine du réseau nucléaire, et aussi, comme nous le verrons plus tard, pour la question de l'autonomie des chromosomes entre deux cinèses consécutives.

(*) Meves (96), du fait que les bâtonnets se deforment si facilement sous la traction des filaments fusoriaux, conclut qu'ils doivent être très flexibles (nachgiebig). Pfeffer (97, p. 38), après avoir fait ressortir que les phénomènes de la vie supposent dans le protoplasme une consistance « zähflüssig », ajoute que peut-être les chromosomes pourraient être doués d'une « aggrégation plus solide », mais définit néanmoins celle-ci comme « gelatinöse ». Fischer (99, p. 69) fait aussi remarquer la consistance visqueuse des chromosomes. — Ajoutons, pour corroborer la remarque de Meves, que cet état des chromosomes est pour ainsi dire rendu palpable par l'étirement que subissent, à la métaphase, les parties médianes de certains bâtonnets-filles, situées entre les deux points où ceux-ci sont attachés, d'une part au fuseau, de l'autre au bâtonnet-sœur. (Voyez, entre autres, Strasburger, 00, fig. 42, *e*, et 65; Janssens, 01, fig. 12, 13, 37.)

§ III. Alvéolisation des chromosomes; formation du réseau.

A. *Description des phénomènes.*

Les chromosomes n'ont pas gardé inaltérées jusqu'au moment où nous sommes arrivés leur forme et leur structure de bâtonnets homogènes. Ils ont subi, dans leur intérieur même, des modifications importantes : elles consistent en une *alvéolisation progressive*, aboutissant à donner aux bâtonnets une *structure alvéolaire* ou *réticulée*.

Le phénomène débute probablement parfois durant l'anaphase ou même dès avant la métaphase. Mais souvent il ne commence à se manifester qu'au diaster. Nous décrivons d'abord les aspects qui se présentent à ce dernier stade.

Avant tout, il faut distinguer dans un noyau en reconstitution : d'une part, les phénomènes qui se passent dans la *partie extérieure* des *bâtonnets périphériques*, sur tout le pourtour du noyau, c'est-à-dire par conséquent dans les parties de chromosomes qui sont en contact avec le cytoplasme, et d'autre part, les phénomènes qui s'observent dans l'intérieur même, soit de ces bâtonnets périphériques, soit des chromosomes centraux. Nous parlerons du premier ordre de phénomènes dans le paragraphe suivant, lorsque nous étudierons la formation de la membrane nucléaire. Ici, nous ne nous occuperons que de la seconde série.

Nous avons représenté ce stade dans les FIG. 3 et 4 (PHOT. 2); la transformation des chromosomes, débutant dans la FIG. 3, est plus avancée dans la FIG. 4. Dans la première, le corps des bâtonnets se montre comme partagé en des compartiments très irréguliers par des lignes plus colorées limitant des espaces plus pâles. Ces compartiments sont, les uns de contour circulaire, les autres polyédriques. Dans la FIG. 4, les espaces dont nous venons de parler sont devenus tout à fait clairs et paraissent nettement comme des *cavités* creusées à l'intérieur du bâtonnet, remplies d'un liquide assez réfringent et entourées par la substance chromatique.

Il faut remarquer, en effet, que ces apparences se retrouvent dans *tous* les noyaux en reconstitution que renferment nos préparations, et que de plus, dans les coupes que nous avons faites, le rasoir a évidemment rencontré les télophases suivant tous les méridiens possibles. Il en faut conclure que ces cavités se trouvent bien à l'intérieur du bâtonnet et qu'elles ne sont pas des sortes de boutonnières traversant le chromosome de part en part.

Il résulte de ce que nous venons dire que chaque bâtonnet a acquis une véritable structure alvéolaire dans laquelle les membranules sont formées par la substance chromatique et est devenu un *réseau élémentaire*, *un réseau monochromosomique*. La substance chromatique se présente ainsi sous les aspects les plus variables; et il serait fastidieux de les décrire par le détail. Nous préférons renvoyer le lecteur aux figures, FIG. **3** et **4**, PHOT. **2**. Nous ferons seulement deux remarques.

D'abord, les membranules d'alvéoles sont d'épaisseur très diverse : les unes sont très minces, mais beaucoup aussi sont assez épaisses, se montrant ainsi en coupe optique comme une sorte de bâtonnet rectangulaire.

De plus, à la confluence de plusieurs alvéoles, on trouve toujours une portion plus renflée, qui se prolonge en s'amincissant dans les lamelles qui s'y amorcent, absolument, — encore une fois, — comme les épaississements angulaires du collenchyme.

Les phénomènes que nous venons de décrire débutent parfois, avons-nous dit, à un stade beaucoup antérieur à la couronne polaire. Nous avons représenté, FIG. **1**, des bâtonnets à l'anaphase, et, FIG. **20**, des chromosomes prêts à se ranger en couronne équatoriale. Dans l'une et l'autre figure, les bâtonnets-filles montrent, gisant dans leur axe, une série de vacuoles assez larges, de contour circulaire ou ovale. L'aspect est absolument le même que celui que l'on observe dans certains nucléoles en vacuolisation. Il semble clair que ces apparences se rattachent aux phénomènes que nous venons de décrire à la télophase, mais nous devrons revenir plus tard sur les relations qui pourraient exister aussi entre ces aspects et les phénomènes que nous observerons à la prophase.

Nous avons jusque maintenant parlé d'*alvéolisation* des bâtonnets. Nous devrions justifier maintenant cette expression et montrer que c'est bien le procédé qu'elle désigne qui est à la base de la transformation des chromosomes. On pourrait, en effet, émettre l'hypothèse que c'est ici une structure propre aux segments nucléaires qui réapparaît après avoir été un instant voilée. De plus, nous devrions toucher en même temps la question de la nature et de l'origine du suc nucléaire et du liquide alvéolaire. Mais nous devons attendre pour traiter ces différents points d'avoir décrit la prophase. Nous montrerons alors, dans notre troisième partie, que les bâtonnets subissent bien à la télophase une *alvéolisation*.

Au moment où nous sommes arrivés, le jeune noyau possède donc la constitution suivante : une cavité vacuolaire limitée, comme nous le dirons bientôt, par une « Hautschicht » cytoplasmique, et remplie d'un liquide dans lequel plongent une série de *bandes chromosomiques* (*) alvéolisées ; celles-ci sont réunies entre elles par des anastomoses plus ou moins nombreuses, qui ne sont autre chose que de la substance chromosomique étirée.

La structure du repos n'est pas encore atteinte. Pour se rendre compte de la façon dont se produit la dernière transformation qui y aboutit, il n'y a qu'à comparer un noyau à ce stade, FIG. 4, avec un noyau quiescent, FIG. 5 et 6. Les deux aspects ne diffèrent l'un de l'autre qu'en très peu de chose. Il suffit que l'alvéolisation des bandes chromosomiques de la FIG. 4 se poursuive encore un peu et que par le fait même celles-ci, se dilatant, se rapprochent les unes des autres jusqu'à ce qu'on ne distingue plus leurs limites latérales, cela suffit, disons-nous, pour que l'aspect de la FIG. 6 soit réalisé et que le réseau nucléaire soit définitivement constitué (**).

Il nous semble inutile d'insister davantage sur cette dernière étape de la reconstitution du repos. Les figures parlent assez d'elles-mêmes (***).

Nous avons jusqu'ici toujours parlé de bandes *alvéolaires*. D'autre part, nous avons signalé, dans le noyau au repos, même dans la cellule de la zone centrale (****), l'existence de portions filamenteuses. Comment expliquer la formation de celles-ci? D'abord, un certain nombre de filaments doivent leur origine à des anastomoses. Mais de plus, à l'intérieur même des bâtonnets, l'alvéolisation en progressant peut amener la rupture de certaines membranules et leur transformation en parties plus ou moins filamenteuses ou lamellaires.

C'est pourquoi nous dirons désormais bandes alvéolaires-réticulées, indiquant ainsi, en même temps, que la structure alvéolaire est primitive.

De ce que nous avons décrit dans notre second et notre troisième paragraphe, il résulte que *la formation du réseau nucléinien dans le Trillium*

(*) Nous ne trouvons pas d'autre expression pour indiquer les aspects représentés par la FIG. 4.

(**) Cet effet de rapprochement des réseaux élémentaires chromosomiques est d'ailleurs peut-être favorisé aussi par la tendance du noyau à s'arrondir et par conséquent à diminuer le grand axe de l'ellipsoïde qu'il forme au début.

(***) Il est extrêmement instructif d'observer un méristème en voie de division active On a sous les yeux, en même temps, tous les stades de la télophase, et on suit, pour ainsi dire, pas à pas l'alvéolisation des chromosomes jusqu'au moment où le noyau est reconstitué.

(****) Nous verrons plus tard ce qui concerne les autres.

ne comporte pas un allongement, un amincissement et une granulisation (*) *des chromosomes, en même temps qu'une production d'anastomoses par bourgeonnement*, mais consiste simplement en ce que les chromosomes, demeurés anastomosés après le tassement polaire, sont devenus, chacun, par alvéolisation, un réseau élémentaire. Le réseau nucléaire est donc un réseau de réseaux (**).

B. *Conclusions touchant la structure du repos.*

L'étude de la télophase jette une vive lumière sur les questions soulevées par l'examen du réseau quiescent et confirme les conclusions de notre premier chapitre.

Elle nous apprend d'abord que le réseau ne peut pas avoir une structure filamenteuse-réticulée. Ensuite, elle nous fait comprendre, ainsi que nous l'avons déjà dit, comment on peut rencontrer, côte à côte dans un même noyau, la structure alvéolaire et la structure réticulée, et en même temps, comment certains noyaux, — ceux des zones extérieures et sous-méristématiques, – semblent présenter surtout une organisation en réseau véritable, formé de trabécules minces. Cette disposition, en effet, s'explique par un degré plus avancé d'alvéolisation, amenant une dislocation filamenteuse des membranules alvéolaires. De fait, cette organisation se rencontre dans les régions où la division se fait moins activement ou même pas du tout et où par conséquent l'étape du repos est prolongée.

Enfin, l'étude de la télophase éclaire encore un autre point important : celui de la signification morphologique des « *granulations* ». Elle montre bien que celles-ci ne sont pas autonomes. Nous ne voyons, en effet, en aucune façon, les chromosomes se décomposer en un système de corpuscules réunis par des tractus minces dont ils seraient indépendants; nous voyons tout simplement la substance chromatique refoulée dans des membranules d'alvéoles ou dans des filaments. Seulement, ainsi que nous l'avons dit plus haut, certaines de ces lamelles sont plus épaisses que d'autres et de plus, par le fait même de la structure alvéolaire, les portions nodales sont plus renflées. Ce sont ces deux sortes de parties épaisses qui constituent les « granulations » du réseau. Ces dernières n'ont donc rien d'autonome, pas plus que les parties analogues d'une structure alvéolaire quelconque.

(*) Nous allons revenir sur ce point.

(**) Nous faisons ici abstraction du point de savoir s'il se forme un peloton-fille continu. Nous viendrons bientôt à cette question.

C. *Littérature.*

Nous comparerons ici notre description des transformations chromosomiques à la télophase avec *les données connexes* de la bibliographie. Nous grouperons ces dernières en plusieurs catégories.

1. Les phénomènes du *Trillium* sont à rapprocher d'abord des reconstitutions de noyaux par la réunion de vésicules chromosomiques parfois réticulées. Nous signalerons surtout ici les vésicules décrites par Broman (99).

2. Nous rangerons dans une seconde catégorie les observations, faites par plusieurs auteurs, de phénomènes tout à fait semblables à ceux que nous avons décrits.

Nemec (99, p. 330) signale, dans chacun des bâtonnets du diaster de l'*Allium*, un refoulement de la nucléine à la périphérie, et il représente, fig. 32, une série linéaire d'alvéoles gisant dans l'axe de chaque chromosome. Cela correspond évidemment à ce que nous avons vu dans le *Trillium* avec des différences qui tiennent aux dimensions considérables des bâtonnets dans cette dernière plante. Mais nous nous séparons de Nemec au sujet de l'évolution ultérieure des chromosomes. Nemec admet, en effet, que la nucléine se résout en granulations qui se répandent sur le réseau formé par l'intermédiaire des anastomoses. Nous avons vu que cette interprétation, — que d'ailleurs Nemec n'appuie d'aucune figure, — ne peut pas s'appliquer au *Trillium*. Nous verrons plus tard, dans un second mémoire, que l'*Allium* ne s'y adapte pas non plus.

Nous rencontrons dans le mémoire d'Eismond (98) des données très semblables aux nôtres. A côté de mitoses à chromosomes homogènes, Eismond décrit des cinèses dans lesquelles les bâtonnets ont acquis une véritable structure alvéolaire. Chacun d'eux est creusé d'une série, en général linéaire, d'alvéoles. Parfois sphériques, ces dernières sont le plus souvent séparées les unes des autres par des portions aplaties de nucléine, ce qui donne au chromosome un aspect strié. Parfois aussi, les alvéoles font saillie sur les bords du bâtonnet, qui prend ainsi la forme d'un chapelet. Eismond observe cette structure non seulement au diaster, mais dès la couronne équatoriale et même pendant le stade spirème. Ces aspects, que l'auteur rapproche des reconstitutions nucléaires par vésicules, seraient produits par voie d'imbibition (par le liquide nucléaire), processus qui peut évidemment

apparaître dans quelques cas plus tôt que de coutume, même au stade de spirème et de l'étoile-mère ».

On voit que cette description présente de grandes ressemblances avec celle que nous avons faite pour le *Trillium*. Nous ferons seulement remarquer que EISMOND n'a pas suivi la reconstitution du noyau aux dépens de ces chromosomes alvéolisés. De plus, nous rencontrons aussi dans notre objet un début de vacuolisation dès la métaphase et même auparavant. Mais nous l'observons dans les chromosomes-filles déjà bien dégagés, en des circonstances par conséquent qui nous permettent de le rattacher au prélude de la reconstitution du noyau. EISMOND, au contraire, n'indique pas s'il observe ce phénomène dans les chromosomes-filles ou dans les chromosomes-mères. Dans ce dernier cas, qui semble bien être celui de sa fig. 4 (stade spirème), il faudrait peut-être, comme nous le verrons plus tard, rattacher ces images, non à la reformation du noyau aux dépens des bâtonnets, mais à la reformation de ceux-ci aux dépens du noyau-mère.

JANSSENS (01) décrit, à la télophase des cinèses spermatogoniales du triton, des apparences intéressantes. D'après l'auteur, les chromosomes du triton seraient formés d'une gaîne de plastine, à l'intérieur de laquelle seraient échelonnés des disques nucléiniens. Au cours de la cinèse, plus ou moins tôt, le rapprochement de ces disques donnerait aux bâtonnets un aspect homogène. Durant la télophase, il se formerait, à l'intérieur de la gaîne plastinienne, un long filament nucléinien nouveau, enroulé plus ou moins en spirale dans la cavité de l'ancien bâtonnet. On n'observe que des tronçons assez irréguliers de cette spirale; cela tient, d'après l'auteur, à ce qu'en beaucoup d'endroits la gaîne-fille pelotonnée à l'intérieur de la gaîne-mère ne contient pas de nucléine. Ce phénomène constituerait probablement l'apparition précoce du spirème de la prophase suivante.

Les apparences observées par JANSSENS se rapprochent beaucoup de celles que nous venons de décrire; mais l'interprétation de l'auteur n'est certainement pas, pour nous en tenir ici à la télophase, applicable au *Trillium*. La structure que nous voyons apparaître dans les chromosomes ne consiste pas en un filament, mais en une trame alvéolaire. De plus, nous verrons dans notre troisième partie que les bâtonnets du *Trillium* ne possèdent pas de gaîne ou d'étui plastinien.

Il faut encore rapprocher de notre description celle de VAN WISSELINGH (99). D'après cet auteur, les chromosomes, qui peuvent durant quelque temps *présenter un aspect perlé*, se transforment en un ensemble de granules

reliés par des parties plus minces et perdent par conséquent toute structure filamenteuse. Ces granulations, rappelons-le, ne sont pour l'auteur que des parties renflées de la trame générale. — On voit que cette description correspond tout à fait à la nôtre. L'aspect perlé, en effet, n'est autre que celui décrit par NEMEC et par EISMOND et que nous retrouverons nous-mêmes dans l'*Allium* : il est le résultat de l'alvéolisation. La formation des « granulations » décrite par VAN WISSELINGH n'est qu'une étape plus avancée de ce phénomène.

Enfin, nous devons encore rappeler ici les observations de VAN BENEDEN (87) et de BOVERI (88) sur les blastomères d'*Ascaris*. Nous les rapportons en dernier lieu parce que ces deux auteurs ne partagent pas le même avis sur la transformation des chromosomes. Tandis que VAN BENEDEN admet que les bâtonnets donnent naissance à autant de vésicules indépendantes qui se fusionneraient par la suite(*), BOVERI au contraire décrit la formation dès le début d'une seule vacuole nucléaire. De plus, VAN BENEDEN admet que chaque chromosome se transforme en un réseau, c'est-à dire en un ensemble de granulations reliées entre elles par des filaments; BOVERI au contraire décrit la transformation de chaque chromosome en une seule série de granules reliés par des tractus minces.

En présence de ces données contradictoires, nous ne pouvons songer à établir une comparaison entre les observations de VAN BENEDEN et de BOVERI et les nôtres pour ce qui concerne la question de l'alvéolisation des bâtonnets. Mais nous verrons bientôt que la comparaison est possible sur d'autres points.

3. Nous rappellerons, en troisième lieu, les observations des auteurs qui décrivent, au début de la télophase, *une division longitudinale des chromosomes-filles*. Tels sont VAN BENEDEN (87), REINKE (94) dans les cinèses spermatogoniales de salamandre, enfin HOF (98) dans le méristème des racines d'*Ephedra major*.

Qu'on ne puisse pas interpréter de cette façon les images du *Trillium*, c'est ce qui ressort de toute notre description et de la seule inspection des FIG. 4 et 5. Mais nous dirons plus : nous pensons que les figures des auteurs que nous venons de citer doivent s'expliquer par une alvéolisation des bâtonnets. Celle-ci s'est faite en une *seule série linéaire de vacuoles*, et c'est ce

(*) La description de VAN BENEDEN rentre donc sous notre nº 1. Nous la plaçons ici pour la rapprocher de celle de BOVERI.

qui produit l'aspect d'une division longitudinale. Nous verrons, dans notre mémoire sur l'*Allium*, que c'est bien là l'explication qu'il faut donner de ces apparences. Nous ajouterons seulement ici quelques remarques. D'abord, Janssens (01) a bien montré que, dans les cinèses spermatogoniales du triton, les chromosomes de la télophase ne subissent pas de division longitudinale. De plus, Nemec, dans l'*Allium*, explique ainsi que nous venons de le faire des images analogues à celles de Hof. Encore, Reinke, dans son ouvrage récent (01), ne mentionne plus cette division longitudinale. Enfin, Eismond fait aussi remarquer la ressemblance entre l'alvéolisation qu'il décrit et une division longitudinale.

4. Enfin, pour terminer cette révision bibliographique, nous ferons remarquer qu'on trouve dans plusieurs auteurs des détails de description et de figures qui nous semblent constituer des indices assez clairs d'une alvéolisation.

Strasburger (84) nous parait représenter ce dernier phénomène dans ses fig. 18, 83, 85. L'auteur note d'ailleurs, au sujet de ces deux dernières figures, l'aspect en ressort présenté par les chromosomes à la télophase (p. 275). Rosen (95) reproduit aussi dans sa fig. 9 une image suggestive. Fergusson (01) signale aussi une apparence - crinkled - des bâtonnets-filles au diaster dans la première segmentation de l'œuf de *Pinus*. Coker (02) représente, fig. 2, un aspect qui correspond tout à fait à l'alvéolisation des chromosomes.

Ces données suffisent pour montrer que notre description de la télophase dans le *Trillium* est conforme à beaucoup de données de la littérature et justifier notre conviction qu'on en trouvera de nombreux exemples. Nous répéterons d'ailleurs ici que nous avons observé déjà des phénomènes absolument semblables dans les racines de divers *Allium* et de l'*Ornithogalum*, ainsi que dans maintes cinèses sporogoniales (*).

§ IV. Formation de la membrane nucléaire.

Nous avons déjà dit, en étudiant le noyau au repos, que la membrane nucléaire est achromatique. Nous allons nous renseigner de plus près encore sur cette question, en étudiant la formation de la membrane.

(*) Loin de nous cependant la pensée de vouloir faire de notre description un type schématique pour toutes les reconstitutions nucléaires. Et cette remarque s'applique à tout notre mémoire.

On sait que la plupart des auteurs botanistes, se ralliant à l'avis de STRASBURGER, la considèrent comme formée par la couche cytoplasmique condensée qui limite la vacuole nucléaire. La membrane du noyau ne diffèrerait donc ni dans son origine ni dans sa constitution d'une membrane vacuolaire quelconque (entre autres, STRASBURGER, 84, p. 248; 88, p. 30).

Les zoologistes ne partagent pas tous la même opinion. Nous nous bornerons à rappeler la manière de voir de VAN BENEDEN et NEYT (87). C'est qu'en effet cette opinion pourrait, à première vue, paraître trouver un appui dans nos préparations. De plus la discussion de nos figures à ce point de vue permettra d'élucider certaines questions qui ont trait à la formation des vésicules chromosomiques et à la transformation des bâtonnets. On sait que, d'après VAN BENEDEN et NEYT, chaque vésicule chromosomique des blastomères de l'*Ascaris* serait limitée extérieurement par une lamelle chromosomique appartenant au bâtonnet lui-même. Le noyau, résultant de la confluence des différentes vésicules, serait donc cloturé par une membrane de provenance chromosomique. Une semblable opinion a été émise par VAN DER STRICHT (92) pour les blastomères du triton.

Dans les cinèses que nous étudions, la formation de la membrane nucléaire correspond en tous points au schéma de STRASBURGER. D'abord, la chose est tout à fait évidente, si l'on observe les portions qui sont situées entre deux extrémités chromosomiques, FIG. 3, ou entre deux bâtonnets voisins. Ces plages de la membrane ne peuvent évidemment pas avoir une origine chromosomique; il est manifeste qu'elles sont dues à une condensation périphérique du cytoplasme autour de l'enchylème nucléaire. On remarquera que ces portions ressemblent souvent à des arceaux attachés de part et d'autre à deux chromosomes et tournant leur convexité vers le cytoplasme. C'est que ce dernier, demeurant adhérent aux chromosomes qui le touchent, doit se bomber sous la poussée du liquide nucléaire. Si maintenant nous considérons soit les parties de la membrane qui longent, qui bordent les chromosomes situés à la périphérie de l'aire nucléaire, FIG. 3, soit celles qui enveloppent certaines extrémités chromosomiques plongeant entièrement dans le cytoplasme, FIG. 4, nous trouvons des apparences qui tendraient à faire appliquer à notre objet l'hypothèse de VAN BENEDEN. Les portions de membrane dont nous parlons se montrent, en coupe optique, constituées d'une série de petits arcs de cercle rattachés au corps du chromosome par des travées chromatiques, FIG. 3 et 4. Il semblerait, et c'est l'hypothèse qui nous avait d'abord souri, que ces petits arceaux ne sont autre chose que la couche périphérique du bâtonnet lui-même, refoulée par une série margi-

nale d'alvéoles intrachromosomiques. Cependant il n'en est rien. Ces apparences se produisent, — nous allons le démontrer, — de la façon suivante.

Le liquide nucléaire ne se dépose pas seulement entre les bâtonnets, mais aussi autour d'eux. Or, les portions marginales des bâtonnets, et de même les extrémités chromosomiques isolées dans le cytoplasme, étant en contact direct avec ce dernier, lui sont plus ou moins adhérentes. C'est pourquoi, lorsque le suc nucléaire s'interpose entre elles et le protoplasme, il reste néanmoins des filaments ou des lamelles d'union, formés par la substance chromosomique elle-même. Il se passe donc ici, entre cytoplasme et bâtonnets, à peu près ce qui se produit entre bâtonnets voisins. Les arceaux qui composent la membrane sont donc ici encore d'origine cytoplasmique et dus à une condensation du protoplasme à la limite du liquide nucléaire.

Voici les faits qui justifient ce que nous venons de dire. D'abord, ces portions de la membrane, pas plus que les autres, ne prennent la coloration nucléaire. Les travées qui les rattachent aux chromosomes sont, au contraire, nettement chromatiques.

De plus, on ne constate jamais une semblable bordure cintrée sur les flancs internes des bâtonnets, nous voulons dire sur les flancs qui regardent l'intérieur du noyau et n'ont ainsi contracté aucune adhérence avec le cytoplasme. Si ces apparences étaient dues à un refoulement de la substance chromosomique par une série marginale d'alvéoles, on devrait les observer sur tout le pourtour d'un même chromosome.

En outre, les arcs de membrane qui séparent deux bâtonnets et qui sont, eux, nettement cytoplasmiques, présentent absolument le même aspect, la même *forme*, que ceux qui bordent un chromosome marginal (FIG. 3).

Rappelons enfin que, durant le repos, la membrane nucléaire se montre parfaitement achromatique.

Pour toutes ces raisons, nous considérons comme établi, *dans le Trillium*, que la membrane nucléaire se forme simplement par une condensation cytoplasmique périphérique, et qu'elle n'est, par conséquent, comme le dit STRASBURGER (88), que : « eine Hautschicht mit der sich das umgebende « Cytoplasma gegen die Kernhöhle abgrenzt » (*).

(*) Cette explication des arcs de cercle qui bordent les chromosomes trouve en quelque sorte une confirmation dans les phénomènes que décrit MEVES (02) dans une tout autre matière. Nous voulons parler de l'espèce de membrane qui se produit autour des « Mitochondrien » dans les spermatides de *Pygœra*. La comparaison entre les fig. 135, 136, 137 de MEVES et nos FIG. **3** et **4** est fort intéressante. (Voir aussi le texte de MEVES, p. 139.)

Nous avons insisté sur ce point de l'origine de la membrane; c'est que, en effet, comme nous le dirons plus tard, les phénomènes qui se passent à la périphérie de l'amas chromosomique et surtout autour des extrémités libres de bâtonnets, se rapprochent singulièrement de ceux que l'on observe lors de la reconstitution des noyaux par vésicules et pourront ainsi servir à interpréter ces dernières.

§ V. Caryoplasme.

Nous avons déjà vu, en décrivant le noyau quiescent que l'on ne peut distinguer à l'intérieur de la membrane, outre les nucléoles, qu'un seul constituant figuré, le réseau chromatique. Rien n'y rappelle, comme nous l'avons dit, le caryoplasme de Carnoy, la lanthanine d'Heidenhain, l'œdématine de Reinke. C'est surtout par l'étude de la télophase et de la prophase que cette question doit se trancher. La télophase, qui nous occupe seule pour le moment, nous apprend ce qui suit.

La membrane nucléaire se forme au contact *immédiat* de l'amas chromosomique par le mécanisme que nous finissons d'analyser. D'autre part, nous le savons, dans l'amas polaire, les bâtonnets sont intimement accolés les uns aux autres. Par conséquent, si une certaine portion de cytoplasme se trouve incluse à l'intérieur de la membrane, elle doit se réduire, en tous cas, à quelques filaments centraux du fuseau, qui auraient été emprisonnés dans le tassement polaire.

Mais nous croyons même que tous les filaments cytoplasmiques sont repoussés en dehors et par le tassement des bâtonnets et surtout par la formation de la vacuole nucléaire. En effet, au stade de la fig. 3, on ne distingue, dans l'espace laissé libre par les bâtonnets et déjà enclos par la membrane nucléaire, rien autre chose que les anastomoses chromatiques.

Il en résulte que si, à un moment donné, il se forme un « caryoplasme » dans le noyau, il ne peut pas provenir du cytoplasme. Mais l'étude de la prophase nous apprendra encore que, *dans les noyaux du Trillium*, il ne se forme aucun caryoplasme.

§ VI. Peloton-fille.

Ainsi que nous l'avons rappelé plus haut, la plupart des auteurs botanistes placent le début de la reconstitution du réseau chromatique dans la formation d'un peloton-fille unique, par l'aboutement des chromosomes du

diaster, d'après le schéma de FLEMMING (82). C'est l'avis entre autres de STRASBURGER (92, 94, 00), GUIGNARD (91), STRASBURGER et MOTTIER (97), NEMEC (99), HOF (98), HOTTES (02) et SCHRAMMEN (02). STRASBURGER cependant avait émis un avis différent en 1888. Il était arrivé alors, en se basant sur des raisons que nous aurons l'occasion de rappeler, à nier le peloton-fille continu aussi bien dans les cinèses somatiques que dans les cinèses de maturation. C'est aussi à une conclusion négative que VAN WISSELINGH a été conduit dans ses études sur les cinèses endospermiques.

Beaucoup de zoologistes, à l'inverse des botanistes, se sont séparés de FLEMMING. RABL (83), BOVERI (87), les premiers, nient la formation d'un spirème continu au diaster. Une conclusion semblable résulte des observations nombreuses qui ont été faites depuis BÜTSCHLI (76) (*) sur les reconstitutions de noyaux par l'intermédiaire de vésicules. Enfin, parmi les auteurs qui ont repris récemment la question, tandis que JANSSENS (01) décrit un spirème continu à la télophase des cinèses spermatogoniales du triton, SUTTON (02) au contraire en nie l'existence dans les cinèses homologues du *Brachystola* (**).

C'est aussi une conclusion négative qui se dégage de nos observations sur le *Trillium*.

Souvent, lorsque se constitue la vacuole nucléaire, les chromosomes ne conservent pas tous une parfaite orientation polaire-équatoriale. D'abord, les bâtonnets marginaux subissent un recourbement de leurs extrémités, ramenant celles-ci vers l'intérieur de l'aire nucléaire. Parfois même, des chromosomes sont presque entièrement déplacés de leur position première, FIG. 3. De plus, les extrémités chromosomiques du centre de l'amas polaire sont souvent aussi comme repoussées par la membrane nucléaire et un peu recourbées le long de celle-ci. Ces déplacements chromosomiques proviennent du mécanisme même de la formation de la vacuole nucléaire (***).

(*) D'après GOLDSCHMIDT (01).

(**) MEVES (96) ne représente pas non plus de peloton-fille dans les spermatogonies de salamandre MONTGOMERY 00 et 01) propose une interprétation toute spéciale, sur laquelle nous aurons à revenir plus tard.

(***) Cela se comprend assez aisément : le liquide nucléaire se dépose autour des bâtonnets en suivant exactement les saillies qu'ils font sur l'amas polaire. Mais d'autre part, la vacuole naissante tend à prendre la forme sphérique ou du moins une forme arrondie. C'est pourquoi tôt ou tard, — sauf quelques exceptions, — les extrémités chromosomiques, un peu saillantes au début, finissent par se trouver ramenées par un recourbement plus ou moins prononcé à l'intérieur d'un contour continu et sans saillies.

Une autre cause qui contribue à rendre parfois malaisée l'analyse des chromosomes à l'intérieur du jeune noyau réside dans la forme même des bâtonnets, constitués souvent, nous l'avons vu, de deux branches inégales. Tandis que la grande branche se termine près de la membrane, l'autre, au contraire, se termine quelque part au milieu même de l'aire nucléaire, où elle est souvent voilée par des chromosomes voisins.

Malgré ces dispositions souvent défavorables à l'analyse du noyau, on peut néanmoins constater assez aisément qu'il ne se forme pas de peloton-fille continu.

D abord, on n'observe jamais cette orientation régulière des extrémités chromosomiques les unes par rapport aux autres, qui devrait être le prélude de la formation du spirème.

De plus, FIG. 3, on retrouve bon nombre de bâtonnets (*) se terminant, soit contre la membrane, soit le long de celle-ci, et cela jusqu'au moment où, les chromosomes s'étant définitivement alvéolisés, leurs limites latérales sont devenues méconnaissables et où par le fait même on ne peut plus poursuivre le trajet d'un bâtonnet déterminé.

En outre, l'absence de peloton-fille ressort avec plus d'évidence encore de l'étude de certains noyaux semblables à ceux de la FIG. 4, PHOT. 2. Dans ce cas, certaines extrémités chromosomiques ne rentrent pas, pour ainsi dire, dans l'intérieur d'une cavité nucléaire ellipsoïdale; elles demeurent plus ou moins isolées au sein du cytoplasme, où elles subissent leur alvéolisation. Ces parties terminales de bâtonnets se comportent donc absolument comme des chromosomes vésiculeux. La formation d'un peloton, dans ce cas, est tout à fait impossible, aussi bien que dans les reconstitutions vésiculaires de noyaux. L'inspection de la FIG. 4 nous semble démonstrative au premier chef.

Dans la suite, les noyaux dont nous parlons s'arrondissent le plus souvent et on ne discerne plus alors les extrémités chromosomiques vésiculisées. Mais parfois on trouve, dans le noyau au repos, une sorte d'apophyse correspondant à toute évidence à une partie terminale de bâtonnet.

STRASBURGER (88) avait déjà insisté sur ce cas d'extrémités chromosomiques faisant saillie sur l'ensemble du noyau. L'auteur n'y voyait qu'une raison d'invraisemblance pour la reformation du peloton. Il se demandait, en effet, comment chacune de ces extrémités aurait pu retrouver l'autre

(*) Nous ne tenons compte ici, évidemment, que des extrémités chromosomiques situées dans le champ de la coupe, de façon à exclure toute possibilité d'une section due au rasoir.

extrémité chromosomique avec laquelle elle eût dû être destinée à s'unir. Ce que nous observons dans le *Trillium* est plus directement démonstratif. Nous y voyons, comme nous venons de le dire, les extrémités chromosomiques s'y comporter tout à fait comme des chromosomes vésiculeux.

Nous pouvons donc conclure que dans les cinèses méristématiques du *Trillium* il ne se produit, à aucun moment de la télophase, un peloton continu. D'ailleurs, ajoutons qu'on se représenterait assez malaisément un aboutement de tous les chromosomes du *Trillium*, étant donnée leur forme fréquente en V à branches inégales.

Il nous reste, pour terminer cette question, à dire quelques mots des observations *de la télophase* (*), sur lesquelles les partisans du peloton-fille continu ont fondé leur opinion. On rencontre des données à ce sujet surtout dans Strasburger et Mottier (97), Strasburger (00), Janssens (01) (**). Ces auteurs représentent, dans le noyau en reconstruction, certaines extrémités de bâtonnets voisins rapprochées les unes des autres, fig. 5 de Strasburger et Mottier, fig. 97, 98, 99, 100 de Strasburger, fig. 80 de Janssens; c'est sur cette disposition qu'ils appuient, pour la télophase, leur manière de voir. (Strasburger et Mottier, p. 331; Strasburger, p. 29; Janssens, p. 58.) Nous savons déjà que dans le *Trillium* cette apparence ne se rencontre pas. Mais de plus, il nous semble que, même pour les objets qu'elles concernent, ces observations ne démontrent pas la formation d'un peloton-fille.

Pour pouvoir, en effet, conclure que l'on est bien en présence du début d'un spirème, il faudrait, — ce que ne semblent pas avoir fait les auteurs précités, — ou bien constater dans la suite un stade où le noyau contiendrait un seul filament continu, sans trace d'extrémités chromosomiques libres, ou du moins il faudrait montrer ce rapprochement des terminaisons chromosomiques dans tous les bâtonnets, de façon à ce que ceux-ci soient rangés suivant un trajet continu. C'est qu'en effet les *quelques rapprochements* que montrent les dessins s'expliquent très naturellement et sont, pour ainsi dire, nécessaires, *même en l'absence de peloton-fille*.

(*) Nous précisons parce qu'on déduit assez souvent l'existence du peloton-fille de la constatation du peloton-mère.

(**) Les observations de Strasburger (00) et de Strasburger et Mottier (97) se rapportent à la télophase de la cinèse hétérotypique. Nous faisons ici abstraction de cette circonstance pour ne considérer que la nature des figures où les auteurs décrivent la formation d'un spirème.

Quelques-uns, d'abord, représentent un simple parallélisme latéral des extrémités chromosomiques, fig. 97 et 98 de STRASBURGER. D'autres, qui simulent en réalité des aboutements, s'expliquent aisément par ce recourbement des extrémités chromosomiques que nous avons vu se produire *simplement par suite de la formation de la cavité et de la membrane nucléaires*, p. 30, note ***. On comprend très bien que ce recourbement puisse amener deux terminaisons chromosomiques voisines à être repliées l'une vers l'autre et à se trouver plus ou moins en contact. C'est le cas pour la fig. 5 de STRASBURGER et MOTTIER, pour la fig. 80 de JANSSENS et pour certains chromosomes des figures de STRASBURGER. De semblables apparences ne suffisent donc pas, par elles-mêmes, à démontrer la formation d'un spirème, puisqu'elles s'expliquent tout aussi naturellement en dehors de cette hypothèse.

Hâtons-nous toutefois d'ajouter que, par suite de ces aboutements fortuits, il pourrait peut-être se faire que, dans certains cas, deux extrémités chromosomiques demeurent réellement soudées entre elles. Nous n'avons pas observé, dans le *Trillium*, une semblable disposition. Mais nous ne voyons pas que ce soit impossible (*).

Nous ferons aussi remarquer, en terminant ce paragraphe, que la non-formation d'un peloton-fille ressortira mieux encore et sans conteste possible de notre étude sur la télophase homœotypique.

CHAPITRE III.

Prophase.

On pourrait considérer comme le schéma le plus généralement admis par les botanistes, pour cette étape de la cinèse, la description suivante qu'en donnait récemment un élève de STRASBURGER, C. HOTTES (02). Au commencement de la prophase, le réseau régulier du noyau se transforme en un seul filament, présentant de nombreux replis et courant irrégulièrement dans la cavité nucléaire. Cette transformation se produit de la façon décrite par ROSEN (95) : les granules chromatiques irréguliers se fusionnent en disques de grandeur presque uniforme et ceux-ci se rangent en séries assez déterminées sur le réseau lininien. Ensuite, les ponts de linine sont rétractés et le filament ainsi libéré se trouve au stade de spirème. Le filament de linine se raccourcit et s'épaissit; il court, en forme de spirale, le

(*) Nous devrions ici résumer notre description de la télophase. Mais nous le ferons plutôt dans nos conclusions générales.

long de la membrane nucléaire. Ce spirème commence ensuite à se diviser longitudinalement de la façon décrite par MOTTIER (bipartition des disques chromatiques). Les moitiés des disques, petites mais facilement reconnaissables à l'aide d'une coloration appropriée, forment deux rangées parallèles le long des bords extérieurs du filament de linine. Ensuite, — cette dernière étape d'après la majorité des auteurs (*) —, la division longitudinale s'achève par le clivage du ruban achromatique, et le peloton se scinde transversalement en chromosomes indépendants.

Ce schéma suffira pour orienter la description que nous allons maintenant commencer de la prophase dans le *Trillium* (**).

§ I. Formation des chromosomes.

La question que nous abordons sous ce titre est indépendante du point de savoir si, à la prophase, il apparait un peloton unique. Nous verrons que c'est le contraire qui est vrai, mais ce que nous allons décrire maintenant subsisterait complétement, même dans l'hypothèse d'un spirème continu. La question actuelle est la suivante. Individuels dès le début, ou individualisés par la segmentation transversale d'un peloton, les chromosomes définitifs possèdent, en tous cas, la forme de bâtonnets homogènes. Nous allons décrire par quel mécanisme, par quelle succession de métamorphoses, le *réseau quiescent* donne naissance à de semblables formations.

Nous verrons que cette étape, dans le *Trillium*, ne correspond pas du tout au schéma que nous avons rappelé plus haut. Il n'y a pas ici confluence des granulations nucléiniennes sur un filament du réseau, soudure de ces granulations en disques chromatiques alignés en une série sur le filament raccourci et épaissi. Les phénomènes sont tout autres. Ils répètent, dans un ordre inverse, ceux que nous avons décrits dans les chromosomes de la télophase.

A. *Description.*

Le premier début des phénomènes est représenté dans les FIG. **9**, **10** et **11**. La cavité nucléaire est occupée par *une série de bandes alvéolaires-réticulées* plus ou moins parallèles, et réunies entre elles par quelques anastomoses. Deux remarques avant tout. D'abord, on ne peut pas confon-

(*) Nous verrons que HOTTES a décrit les stades ultérieurs d'une façon spéciale.

(**) C'est là, avons-nous dit, le schéma généralement admis par les botanistes Nous aurons bientôt l'occasion de signaler des opinions divergentes.

dre les aspects que représentent ces figures avec des images de télophase : cela résulte des dimensions considérables de ces noyaux. Ensuite, l'apparence que nous décrivons constitue bien le début du mouvement cinétique dans le noyau. En effet, comme nous allons le voir, nous pouvons suivre pas à pas la transformation graduelle de ces bandes en bâtonnets définitifs.

Étudions maintenant de plus près les bandes chromosomiques. On ne pourrait mieux les définir qu'en disant qu'elles ne sont *pas autre chose que des tranches du réseau*. Elles possèdent absolument la même organisation que le réseau lui-même, et il suffit de se les représenter rapprochées latéralement les unes des autres, de façon à combler les interstices étroits qui les séparent en ce moment, pour reconstituer, *sans plus*, l'image du noyau quiescent (*). En un mot, on voit que le réseau s'est comme disloqué en plages parallèles ou plutôt qu'il s'est produit dans le réseau, suivant certaines directions, un mouvement de concentration, de rapprochement des parties, qui a amené sa dislocation en plages juxtaposées, en *réseaux chromosomiques*.

Une autre particularité importante à relever, c'est la parfaite ressemblance de ce stade prophasique initial avec la disposition caractéristique de l'ultime télophase. Les bandes chromosomiques ont de part et d'autre même aspect, même structure, FIG. **10** et **4**, PHOT. **4** et **2**.

Enfin, un mot encore au sujet des « granulations » de ces bandes alvéolaires-réticulées pour faire remarquer qu'elles ont absolument la même valeur que celles du réseau lui-même, qu'elles ne représentent que des renflements locaux d'une *trame générale unique*.

En résumé donc, la première transformation du réseau consiste dans sa dislocation en tranches alvéolaires-réticulées (**).

Poursuivons l'étude de l'évolution ultérieure des bandes chromosomiques. C'est par un procédé de *concentration graduelle* continuant le

(*) Seulement l'aspect de ces bandes varie d'après la région où se trouve le noyau considéré. Les FIG. **9** et **11** sont empruntées à une zone où les noyaux quiescents se rapprochent de la forme nous que avons décrite pour la portion externe du périblème. Il faut par conséquent les mettre en regard du noyau au repos représenté par la FIG. **7**. La FIG. **10**, au contraire, est empruntée à la zone que nous avons appelée centrale ; il faut donc la rapprocher de noyaux quiescents semblables à ceux des FIG. **5** et **6**.

(**) Nous avons dit que ces dernières sont réunies par des anastomoses. Celles-ci sont franchement chromatiques. Mais nous ne pourrons préciser leur valeur morphologique que lorsque nous aurons, dans notre troisième partie, étudié la question de l'autonomie des chromosomes dans le *Trillium*.

premier mouvement de condensation qui leur a donné naissance aux dépens du réseau, qu'elles vont maintenant se transformer en chromosomes définitifs. Cette concentration, qui, pour le dire dès maintenant, se continue jusqu'à la fin de la prophase, jusque dans les chromosomes-filles, se produit de la façon suivante : la substance chromatique, éparse dans les lamelles ou filaments qu'elle constitue, *se ramasse* progressivement sur elle-même; les différentes parties chromatiques rentrent pour ainsi dire les unes dans les autres, en oblitérant de plus en plus les cavités ou espaces alvéolaires qui les séparent. Et ce procédé se continue jusqu'à la constitution de bâtonnets homogènes, de contour lisse et n'ayant gardé aucune trace de leur structure primitive. Il se passe dans toute la substance chromatique à peu près ce qui se produit dans un filament de caoutchouc lorsque, après l'avoir fortement étiré, on lui laisse lentement reprendre sa forme première.

En deux mots, *concentration* et — *sit venia verbo!* — *homogénéisation* (*).

La preuve de ce que nous venons de dire, la voici.

En groupant tous les aspects de prophase que nous rencontrons dans nos coupes, on constitue une série de formes transitionnelles rattachant par une chaîne ininterrompue les bandes initiales aux chromosomes définitifs homogènes et ne s'expliquant que par des degrés plus ou moins avancés de concentration de la substance chromatique.

Nous ne pouvons évidemment songer à représenter ou à décrire par le détail les nombreuses *variétés* d'aspects des bandes chromosomiques, variétés qui sont la conséquence nécessaire du procédé que nous venons de décrire. Nous avons reproduit dans les FIG. **12** et **13**, — **14**, **15**, **16**, **17**, — **18**, une série *complète* de formes, c'est-à-dire la suite des aspects auxquels on peut ramener, avec de légères variantes, *toutes les formes des bandes chromosomiques que l'on rencontre.*

Cette série, d'une part complète dans le sens que nous venons de dire et d'autre part sans hiatus, nous semble pour ainsi dire mettre sous les yeux la concentration graduelle des bandes primitives des FIG. **9**, **10** et **11**. Nous nous permettons d'y renvoyer le lecteur et nous ne donnerons que quelques mots de commentaire.

(*) Il est bien clair que pendant ces transformations les chromosomes subissent un raccourcissement plus ou moins considérable. Mais nous concevons ce raccourcissement comme une manifestation du mouvement de concentration, de ramassement, auquel obéissent, en cette étape, les chromosomes.

La FIG. **12** (PHOT. **4**)(*) représente deux tronçons de bandes peu de temps après leur apparition. La structure alvéolaire y est encore nettement reconnaissable, mais déjà on y observe un ramassement, une concentration de la substance chromatique. Nous avons représenté dans la FIG. **13** ces mêmes tronçons à un grossissement plus considérable (obj. 1,30, d. f. 2 mm.; oc. 18), cela pour faire palper en quelque sorte d'une part la structure alvéolaire de ces bandes, et de l'autre le ramassement de la substance chromatique.

Les FIG. **14**, **15**, **16**, **17**, ne se succèdent pas l'une à l'autre; elles représentent plutôt divers aspects d'un même stade. La concentration s'y est accentuée. Les chromosomes prennent la forme de *rubans chromatiques;* mais on reconnaît encore des traces de la structure alvéolaire; et, dans les portions déjà presque homogènes, le contour irrégulièrement bosselé des bâtonnets trahit encore leur histoire antérieure.

Enfin, au stade de la FIG. **18**, les chromosomes ont pris la forme de rubans homogènes, reliés par quelques anastomoses et portant les vestiges d'autres anastomoses maintenant brisées.

Nous répétons encore une fois que le simple examen des figures est plus convaincant que n'importe quel commentaire. Elles montrent bien que les chromosomes du *Trillium* ne sont que *des plages, des tranches du réseau, concentrées et homogénéisées.*

Nous ajouterons deux remarques destinées à préciser davantage la portée de nos observations.

1. Dans la sériation que nous venons de donner, on voit qu'il n'y a pas place pour le long filament mince qu'on a décrit dans d'autres objets, et qui, en se raccourcissant, devrait devenir le spirème lâche et épais. Et, de fait, nous ne rencontrons pas de semblable filament. Les figures que nous avons données représentent *la sériation complète des stades.* Parfois, néanmoins, dans certains noyaux de la région extérieure de la coiffe, on observe des *portions* de spirème assez minces réunissant des parties plus épaisses, FIG. **17**[bis]. Comment expliquer leur formation aux dépens de bandes chromosomiques par concentration de celles-ci? D'une façon très simple. Les noyaux de la zone dont nous parlons sont souvent peu développés. Les bandes y sont par conséquent assez étroites. La concentration doit donc y produire au moins des portions de chromosomes assez minces au début.

(*) Les FIG. **12** et **13** représentent une portion du noyau reproduit dans le PHOT. **4**. Notons ici que nous ne donnons pas nos photogrammes comme des chefs-d'œuvre. Les PHOT. **2** et **4** nous semblent cependant constituer un *document* intéressant pour l'existence des bandes alvéolaires.

La concentration est d'ailleurs pour ainsi dire palpable, même dans ce cas. En effet, ces parties minces sont de contours très irréguliers, portant de ci de là des portions plus épaisses. Cette irrégularité s'explique par les diverses quantités de substance chromatique qui se trouvaient aux différents niveaux de la bande initiale (*).

Ce qui justifie encore cette explication, c'est que dans les cas les plus évidents de concentration chromosomique, FIG. 14, on trouve parfois un tout petit tractus mince, dont la formation ne peut pas comporter d'autre interprétation.

D'ailleurs, nous le répétons, dans la zone des divisions actives, on ne rencontre jamais de semblable filament mince (**).

2. Dans le *Trillium*, les chromosomes ne présentent *à aucun moment* la forme d'un ruban achromatique portant une série linéaire de disques nucléiniens. On ne peut même pas y distinguer des corpuscules chromatiques autonomes. La série de figures que nous avons mise sous les yeux du lecteur nous en semble une preuve évidente. Néanmoins, les chromosomes devenus déjà assez homogènes semblent souvent porter *des sortes de « granulations »* assez développées. Mais il est d'abord manifeste que plusieurs d'entre elles ne sont que des restes d'anastomoses brisées, les parties basilaires par lesquelles celles-ci s'inséraient, pour ainsi dire, aux chromosomes. Quant aux autres, il est encore évident qu'elles ne sont pas distinctes d'un substratum qui les porterait; elles ne sont que des protubérances ou, mieux, des parties renflées d'une seule structure chromatique. De plus, elles sont distribuées de la façon la plus irrégulière le long du ruban chromosomique, ni en une rangée, ni en plusieurs séries, mais tout à fait sans ordre. Il semble évident qu'elles sont le résultat de la concentration même et qu'elles sont produites par la confluence des parties plus renflées des bandes initiales (***).

Le chromosome de Trillium est donc, tout simplement, un ruban chromatique formé par le tassement, le ramassement de

(*) Plus haut, nous avons fait remarquer que la concentration amène un raccourcissement des rubans chromosomiques. C'est ici le moment de noter que le ramassement de la substance chromatique pourra souvent se manifester aussi par un épaississement du bâtonnet en formation, et cela surtout dans les parties primitivement minces dont nous parlons dans le texte. La concentration qui se fait *suivant l'axe du chromosome* doit en effet amener l'épaississement de semblables portions.

(**) Nous aurons l'occasion, en décrivant l'*Allium*, d'analyser de plus près la genèse du filament mince des auteurs.

(***) Nous verrons dans notre mémoire sur l'*Allium* que certaines apparences peuvent, dans cette plante, donner l'illusion d'un alignement de disques. Mais dans le *Trillium*, *l'illusion même est impossible.*

la substance qui constitue la trame des bandes alvéolaires réticulées (*). Il ne résulte pas d'un arrangement, linéaire ou autre, de corpuscules chromatiques autonomes sur un ruban achromatique.

B. *Littérature.*

Un examen attentif de la littérature nous paraît apporter de précieuses confirmations à la description que nous venons de faire. Plusieurs observations de nos devanciers, demeurées plus ou moins inexpliquées dans leur interprétation, rentrent au contraire tout à fait dans le cadre de notre explication. Et ce qui nous autorise à interpréter ainsi ces données à la lumière de nos résultats dans le *Trillium*, c'est la clarté exceptionnelle des phénomènes dans cette plante.

STRASBURGER (84) nous semble avoir nettement observé les bandes chromosomiques en voie de concentration. Cela paraît clair, si de la fig. 23 de l'auteur on rapproche son texte, p. 250 : « Werden bestimmte Stränge « des Netzwerkes eingezogen, seitliche Verbindungen gelöst, ein bestimm- « ter, fortlaufender Strang verstärkt. In diesem *liegen die Mikrosomen* « *nicht mehr in einfachen Reihen*, wie dies in den Strängen des Netzwerkes « meist der Fall war; schieben sich vielmehr an einander vorbei und *bil-* « *den mehrfache Reihen*. An vielen Orten hat es den Anschein, fig. 23, als « wenn *die zarten Strängen des Netzwerkes sich drahtfederartig einrollen*, « *die Windungen verschmelzen möchten und so der dickere Strang erzeugt* « *würde* (**), fig. 23; doch mag die Dickenzunahme der Stränge auch in « einfacherer Weise als unmittelbare Folge der Verkürzung sich einstellen. »

Les aspects dont parle l'auteur et dont nous avons souligné la description correspondent tout à fait à ce que nous avons observé et s'expliquent tout naturellement comme des stades successifs de la concentration des chromosomes.

STRASBURGER, p. 251, ajoute que l'on n'observe les disques nucléiniens que dans les cas *les plus favorables*. Nous allons toucher ce point à propos des observations de ZIMMERMANN (96), auxquelles nous passons maintenant.

ZIMMERMANN n'étudie pas de près la formation des chromosomes : il note toutefois qu'il ne retrouve pas dans les noyaux endospermiques de *Fritillaria* la constitution chromosomique décrite par STRASBURGER et comportant une alternance régulière de disques nucléiniens et de disques

(*) Nous ne touchons pas ici la question de la structure intime et *ultramicroscopique* des chromosomes.

(**) Les passages imprimés en italique ne sont pas soulignés dans le texte de l'auteur.

incolores. Il observe seulement une enfilade de sphères chromatiques donnant au bâtonnet un aspect perlé. La figure de l'auteur représente, il faut le noter, *des sphères creuses*. — C'est là aussi, pensons-nous, un stade de la concentration des bandes. Celles-ci sont étroites et ne montrent qu'une *série linéaire d'alvéoles* (*). Cela concorde avec le détail que nous venons de relever, c'est-à-dire la présence de sphères creuses.

C'est ainsi que nous expliquons (**) aussi les aspects qui, dans certains cas (***), ont fait admettre les disques nucléiniens. Ces apparences se rencontrent dans des chromosomes assez étroits, dans lesquels, au début de la concentration, il n'existe qu'une série axiale d'alvéoles assez régulières. C'est l'alternance entre les cavités claires des alvéoles et les membranes transversales de ces dernières qui donne l'illusion d'un alignement chromatique.

On comprend alors la remarque de Strasburger (84, p. 251) que nous avons rappelée plus haut. La rareté de l'observation des disques s'explique par le fait qu'il s'agit là d'un aspect plus ou moins fortuit des bandes alvéolaires.

La description de Van Wisselingh (99) rentre tout à fait dans notre interprétation, qui la complète et l'explique.

« Ein Theil der feinen Fädchen », dit l'auteur, « welche die Klümpchen « und Körner mit einander verbinden, zieht sich zusammen. Demzufolge « nähern sich die Klümpchen und die Körner einander, und schliesslich « sind sie nicht mehr zu unterscheiden. So entstehen die Kernfäden. An- « fangs sehen dieselben einigermassen perlschnurartig aus. Das dauert « jedoch nicht lange. Die Klümpchen und Körner werden gegen einander « gedrückt und abgeplattet. Die Fäden erhalten ein mehr gleichmässiges « Aussehen. Nachher ziehen sie sich noch bedeutend zusammen. »

On voit que cette description, ainsi que nous venons de le dire, est *complétée* et *expliquée* par la nôtre (****).

(*) Nous montrerons à propos de l'*Allium* que cette interprétation est certainement la vraie.

(**) Nous justifierons encore complètement cette manière de voir dans notre mémoire sur l'*Allium*.

(***) Dans certains cas, disons-nous; c'est qu'en effet nous ne prétendons pas appliquer cette interprétation à toutes les descriptions de disques. Nous ne faisons allusion ici qu'au peloton de la plupart des cinèses somatiques dans les végétaux.

(****) Dans le but de faire mieux ressortir la valeur de cette concordance entre nos observations et celles de plusieurs auteurs, nous ferons remarquer que ce n'est qu'après avoir élaboré entièrement notre interprétation que nous avons fouillé dans le détail les descriptions antérieures pour y trouver des éléments de confirmation. Notre explication nous a été suggérée uniquement par l'étude de nos préparations.

Nous savons comment s'explique cet aspect «perlschnurartig» des chromosomes. De plus, dans le *Trillium*, on ne peut pas dire que les «Klümpchen» sont «gedrückt und abgeplattet». Nous avons vu que toute la substance chromatique se ramasse sur elle-même, ainsi que ferait un filament de caoutchouc qu'on aurait étiré et qu'on abandonnerait ensuite lentement à son élasticité. Nous nous permettrons aussi de regretter que Van Wisselingh n'ait donné aucune figure de ce stade.

La description de Rosen (95) contient aussi des données très intéressantes à notre point de vue. Mais elles se rapprochent surtout de nos observations sur l'*Allium*. C'est pourquoi nous en renvoyons la discussion à notre mémoire prochain sur cette dernière plante.

Schaffner (98) n'a pas pu, dit-il, élucider la question de la formation des chromosomes dans la racine d'*Allium*. Mais il faut remarquer que l'auteur ne dessine pas de disques chromatiques et n'en mentionne pas l'existence. — La même observation s'applique à la description de Fulmer (98).

Dans les cinèses du bulbe d'*Erythronium*, au contraire, Schaffner (01) aurait observé des granules nucléiniens disposés en une seule série. Mais la fig. 7, à laquelle l'auteur renvoie, présente un cordon *entièrement chromatique*, dont les soi-disant granulations ne sont que des parties un peu renflées et d'ailleurs *très distantes* les unes des autres. Il nous paraît clair que Schaffner représente là un des stades ultimes de la concentration. Nous ajouterons que, en tous cas, cette fig. 7 de l'auteur ne présente *rien de commun* avec le schéma classique de la constitution granulaire des chromosomes.

Nous devrions citer encore ici les observations de Hof (98) et de Hottes (02), mais nous en parlerons plutôt à propos de la division longitudinale et nous verrons alors qu'elles semblent aussi favorables à notre interprétation.

§ II. Division longitudinale.

La division longitudinale se produit toujours avant le stade de couronne équatoriale. A la fin de la prophase, au moment où le fuseau s'organise dans le protoplasme, les chromosomes sont toujours constitués de deux segments-filles, bien indépendants l'un de l'autre et plus ou moins entrelacés, fig. **20**. Seulement, il y a une certaine élasticité dans la période où s'effectue la bipartition longitudinale des bâtonnets. Dans certains chromo-

somes, elle ne se produit pas avant qu'ils ne soient devenus homogènes, n'ayant gardé aucune trace apparente de leur ancienne structure alvéolaire. La FIG. 18 montre, en effet, des chromosomes parvenus à ce stade et cependant encore indivis, et, d'autre part, la FIG. 19, *d*, représente le début du phénomène dans un bâtonnet homogène. Mais souvent aussi le clivage longitudinal se manifeste dans des bâtonnets où l'homogénéisation est moins avancée, FIG. 19, *c*.

On ne peut donc pas établir un ordre de succession rigoureusement fixe entre concentration chromosomique et division longitudinale. Ce que l'on peut dire, c'est que les chromosomes subissent ce dernier phénomène *durant la dernière étape de leur concentration*, lorsqu'ils ont atteint la forme de rubans chromatiques.

Comment se produit la division longitudinale?

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que les chromosomes du *Trillium* ne portent pas de disques nucléiniens ni même de vraies granulations. Il en résulte déjà que le début du phénomène qui nous occupe maintenant ne peut pas consister dans une bipartition axiale de semblables disques ni dans un partage d'entités morphologiques autonomes qui seraient rangées sur le bâtonnet. Cela est confirmé par le fait que, *jamais*, nous n'observons sur les bâtonnets du *Trillium* une double rangée de granulations, même dans les chromosomes dont le clivage longitudinal est assez précoce, FIG. 19.

Parfois, il est vrai, un examen tout à fait superficiel pourrait faire croire à l'existence, dans *certaines portions* de bâtonnets, d'une double rangée de granulations, FIG. 19, *c*. Mais une observation plus attentive montre tout de suite que, même dans ces cas exceptionnels, il ne s'agit que de protubérances de forme variée et distribuées sans aucun ordre et non pas de corpuscules autonomes.

Ajoutons que, lorsque le clivage est précoce, il doit arriver que certaines « protubérances » du chromosome-mère sont partagées en deux, et que dans ce cas on pourra observer deux « protubérances-sœurs » donnant l'illusion de deux « granulations sœurs ».

La division s'accomplit d'une façon beaucoup plus simple. Elle se produit simplement par *le clivage longitudinal du ruban chromatique* qui constitue un chromosome. Elle débute, FIG. 19, *d*, *c*, par la formation d'une série de fentes gisant dans l'axe du bâtonnet. Les segments-sœurs sont ainsi, au

début, réunis par une série d'anastomoses, FIG. **19**, *b*, *e*. Comme, d'autre part, les anastomoses qui reliaient entre eux les bâtonnets voisins sont maintenant en grande partie brisées, il en résulte que les chromosomes-filles présentent des contours hérissés, FIG. **19**, *a*, *b*, *c*, *e*.

Après que la division longitudinale a apparu, le mouvement de concentration chromosomique se poursuit, ayant maintenant pour siège les segments-sœurs. Aussi voit-on ces derniers régulariser de plus en plus leurs contours en rétractant pour ainsi dire les anastomoses et les débris d'anastomoses qui dentelaient leurs bords : bientôt le chromosome définitif est au terme de son évolution prophasique ; il est formé de deux chromosomes-filles entrelacés (*), mais libres de tout lien latéral réciproque, FIG. **20** et **21** (**).

En résumé donc, *la division longitudinale dans le Trillium n'est pas essentiellement la bipartition d'une série de corpuscules autonomes fixés sur le bâtonnet; elle consiste simplement dans le partage en deux d'un ruban chromatique, formé lui-même par la concentration d'un réseau chromosomique.*

Nous ne nous arrêterons pas ici à discuter ces observations au point de vue des théories sur la signification et la portée de la division longitudinale.

Nous attendrons pour le faire d'avoir décrit dans plusieurs autres plantes des phénomènes identiques à ceux que nous venons d'exposer.

Dans cette question encore, nous croyons que notre description, — que nous confirmerons d'ailleurs dans notre prochain mémoire sur l'*Allium*, — est en harmonie avec plusieurs données de la littérature (***) et qu'elle permet de ramener à l'unité certaines divergences d'opinion.

Elle concorde d'abord avec les cas, rappelés plus haut, où l'on n'a pas constaté un alignement de disques.

En outre, plusieurs auteurs n'ont pas observé ce partage des granules de PFITZNER. Les fig. 3 et 33 (****) de NEMEC (99), entre autres, montrent un filament (continu d'après l'auteur) déjà tout à fait homogène et cependant encore indivis.

(*) L'origine de cet entrelacement a déjà été expliquée par l'un de nous (GRÉGOIRE, 99)

(**) Nous observons très souvent dans les chromosomes-filles une ou plusieurs fentes transversales, très précises, comme taillées au couteau, FIG. **20**. Elles se correspondent parfaitement d'un segment-sœur à l'autre, FIG. **20**. Il est certain qu'il ne s'agit pas là d'une fente complète; le chromosome en effet ne se disloque jamais; mais nous n'entrevoyons pas d'explication de ce phénomène, que nous ne faisons que signaler.

(***) Nous ne considérons ici que les descriptions de cinèses somatiques.

(****) Cette figure est faussement numérotée 56 dans la planche de l'auteur.

Hof (98) décrit une bipartition de disques chromatiques, mais d'autre part, il fait remarquer la parfaite ressemblance entre la division longitudinale de la prophase et les aspects des chromosomes télophasiques, qu'il interprète aussi, nous l'avons vu, comme une division. C'est pourquoi nous pensons que, à la prophase de même qu'à la télophase, l'auteur a observé des bandes alvéolaires, simulant, par la disposition régulière des alvéoles, soit un alignement de disques, soit une bipartition longitudinale (*).

C'est de la même façon que nous croyons devoir interpréter la description de Hottes (02). D'après cet auteur, les disques-sœurs, après s'être écartés, se rapprocheraient et se resouderaient de nouveau. Cette donnée ne concorde pas avec celles des autres observateurs. Dans le *Trillium* entre autres, et, d'après Mottier (97), dans le *Lilium*, la division longitudinale, une fois apparue, ne cesse plus d'être visible. C'est pourquoi nous pensons que l'auteur a eu devant les yeux des images de la concentration chromosomique. Les chromosomes apparemment divisés en long seraient, en réalité, les bandes initiales et la disparition de la fente longitudinale apparente serait due au ramassement de la matière chromatique.

Ajoutons d'ailleurs, encore ici, que notre étude de l'*Allium* renforcera les interprétations que nous venons de proposer.

§ III. Peloton-mère.

Les auteurs qui admettent, à la prophase, l'existence d'un spirème continu ne sont pas d'accord sur la question de savoir à quel moment se produirait la segmentation transversale du peloton nucléinien.

Tandis que Mottier (97, p. 152), Hottes (02, p. 19) et Schrammen (02, p. 54) reculent ce stade jusqu'au moment où le fuseau a envahi la cavité nucléaire, Hof (98, p. 168) au contraire, dans les divers objets qu'il a étudiés, observe déjà les chromosomes individualisés, lorsque la membrane nucléaire est encore intacte et qu'il n'existe encore aucune ébauche du fuseau. De même, d'après Nemec (99, p. 319), la segmentation du spirème coïnciderait avec l'apparition des calottes (Kappen) préfusoriales, marquant le premier début de la figure achromatique.

(*) On comprend qu'une série linéaire d'alvéoles pourra, suivant différents cas, donner l'illusion soit d'une rangée de disques, soit d'une double série de granulations-sœurs, et cela selon que les portions chromatiques les plus apparentes seront ou les lamelles *transversales* ou les lamelles *marginales*.

Dans le *Trillium*, il est d'abord certain que les chromosomes sont indépendants, lorsque, déjà homogénéisés et divisés en long, ils sont encore contenus à l'intérieur de la membrane nucléaire, avant que le fuseau ne commence à se dessiner, FIG. **18**, ou au début de l'orientation fusoriale.

Mais d'après nos préparations, nous devons dire plus encore. *A aucun moment de la prophase, il n'existe un spirème continu.* En effet : d'abord, dès que le réseau quiescent se disloque en bandes chromosomiques, on voit que celles-ci sont libres déjà les unes des autres. Il est évidemment impossible, ici comme à la télophase, de poursuivre sur toute leur longueur les bandes alvéolaires : le rasoir en a entamé plusieurs, et de plus, ainsi que nous le ferons ressortir dans notre troisième partie, elles sont assez irrégulièrement distribuées. Mais toujours on en observe un certain nombre qui se terminent librement, soit à la membrane nucléaire, soit dans l'intérieur même du noyau : plusieurs bandes des FIG. **9** et **11** sont dans ce cas. Cette indépendance est, ici encore, surtout évidente dans les extrémités chromosomiques qui font saillie sur l'ensemble du noyau, FIG. **10**.

De plus, au stade où les chromosomes sont devenus homogènes, leurs extrémités sont placées dans des situations réciproques telles qu'on ne pourrait en aucune façon se les représenter comme ayant été en contact à une étape précédente. Or, souvent, ces extrémités sont encore reliées par des anastomoses aux chromosomes qui les entourent (*). Elles se trouvent donc dans la position qui était la leur au sortir du repos, et par conséquent ont dû être, dès le début, libres les unes des autres.

Nous avons dit, à propos de la télophase, que des soudures accidentelles pourraient peut-être parfois enchaîner plusieurs chromosomes-filles en un tronçon de spirème. Il est clair qu'une possibilité analogue existe pour la prophase. Nous n'avons pas observé d'exemple d'un semblable tronçon de spirème, mais nous voulons simplement ici en indiquer la possibilité.

§ IV. Caryoplasme.

Pour terminer notre description de la prophase, il nous reste à ajouter quelques mots sur la question du caryoplasme. Nos préparations de *Trillium* sont extrêmement claires à ce sujet. Au stade de la FIG. **18**, lorsque

(*) Nous n'avons pas représenté de semblables aspects dans nos figures Mais on en rencontre de nombreux exemples au stade de la FIG. **18**.

les chromosomes ont presque terminé leur mouvement d'homogénéisation, il n'y a trace dans la cavité du noyau d'aucune autre formation granulaire ou filamenteuse. Les bâtonnets, reliés encore par quelques anastomoses nucléiniennes, plongent seuls, — outre le nucléole, — dans l'enchylème nucléaire. Et il en est ainsi dans tous les stades de la prophase, FIG. **9-18**. A aucun moment donc, le noyau du *Trillium* ne contient de caryoplasme.

DEUXIÈME PARTIE.

Télophase de la cinèse homœotypique dans le Trillium cernuum.

La télophase de la cinèse homœotypique dans les microsporocytes de *Trillium cernuum* présente un intérêt tout spécial. Pour la première fois, croyons-nous, dans les végétaux, nous allons y décrire une reconstitution de noyau à l'aide de vésicules chromosomiques ou caryomérites (*). De plus, grâce aux dimensions considérables des chromosomes, ces vésicules se prêtent aisément à une analyse intime.

La description que nous allons commencer va établir avec plus de force encore et une plus indiscutable évidence les conclusions que nous venons de dégager de notre étude de la télophase dans les cinèses méristématiques.

Les FIG. **22**, **23**, **24**, **25**, représentent différents aspects des noyaux en reconstruction. On remarquera que nous ne pourrons pas élucider toute la suite des phénomènes. Nos préparations, en effet, ne contiennent pas de figures montrant le premier début de la télophase (**). Néanmoins, les images que nous avons reproduites suffisent pour se faire une représentation exacte des principaux traits de cette étape.

Nous analyserons, en premier lieu, la *disposition des chromosomes*. Nous verrons ensuite *comment prennent naissance les caryomérites*.

(*) Nous choisissons cette dénomination proposée par GOLDSCHMIDT (02) pour la raison suivante : nous verrons plus tard que *la seule différence* entre la reconstitution ordinaire du noyau et sa reformation par vésicules consiste précisément en ce que, dans ce dernier cas, au lieu d'une seule vacuole nucléaire, il s'en produit, au début, un certain nombre. Chaque vésicule est donc identique, sauf le nombre des bâtonnets, à un noyau ordinaire, et constitue bien par conséquent un noyau partiel, un caryomérite. Seulement nous appellerons ainsi, non le bâtonnet lui-même, mais l'ensemble de la vésicule.

(**) Nous compléterons notre description, ainsi que nous l'avons déjà annoncé, dès que nous pourrons nous procurer un matériel suffisant.

1. Disposition des chromosomes.

La FIG. 24 montre deux vésicules monochromosomiques tout à fait typiques, indépendantes l'une de l'autre et indépendantes toutes deux du noyau principal. Mais cette disposition est rare à ce stade. Le plus souvent, les vésicules chromosomiques confluent sur une plus ou moins grande étendue.

La FIG. 23, PHOT. 5, représente un des aspects qu'on rencontre le plus fréquemment. La cavité nucléaire apparemment unique se prolonge, sur son pourtour équatorial, en des sortes de doigts de gant, fortement saillants, dans lesquels sont engagées des extrémités chromosomiques isolées.

Il faut rattacher à l'une ou à l'autre des deux dispositions précédentes les images offertes par beaucoup de cellules qui ont été coupées dans un plan perpendiculaire à l'axe du fuseau homœotypique(*). A côté d'une cavité nucléaire assez grande, on trouve, dans ces cellules, une ou plusieurs petites vésicules circulaires, qui sont la coupe, optique ou réelle, de *bras de chromosomes*. Il est souvent difficile de dire si ces derniers sont tout à fait indépendants comme dans le cas de la FIG. 24, ou bien si les vésicules qu'ils forment vont déboucher dans la grande cavité nucléaire, comme dans le cas de la FIG. 23.

On rencontre souvent aussi des dispositions intermédiaires entre celle de la FIG. 23 et celle de la FIG. 24, comportant des vésicules, non pas entièrement indépendantes, mais à peu près telles, ne communiquant entre elles que par une surface très restreinte (**). C'est la disposition des chromosomes de la FIG. 22. Seulement, ils ont été représentés en un plan un peu inférieur à leur niveau de communication.

Enfin, à un stade ultérieur, le noyau reconstitué se montre toujours plus ou moins profondément lobé, FIG. 25 (***).

De cette description nous pouvons déduire des conclusions importantes touchant la disposition réciproque des chromosomes à la télophase homœotypique.

Il est d'abord *tout à fait évident*, — plus encore que pour la cinèse méristématique, — *qu'il ne s'y forme pas de peloton-fille* (toutes les figures);

(*) Nous n'avons pas représenté cette disposition.

(**) Il est même souvent impossible de dire si elles sont réellement en communication ou si elles sont simplement très rapprochées.

(***) Nous n'avons pas pu observer les noyaux polliniques entièrement au repos.

cette constatation, d'une clarté exceptionnelle, renforce singulièrement les conclusions que nous avons établies à ce sujet dans notre première partie.

De plus, nous sommes bien ici en présence d'une reconstitution de noyau par caryomérites. N'ayant pas observé le début de la télophase, nous ne saurions dire si parfois il se forme autant de vésicules que de chromosomes, ni si les caryomérites, mono- ou polychromosomiques, sont souvent, au début, tout à fait indépendants. Mais ce qui est certain, c'est que le *noyau résulte de la confluence de vésicules, ou monochromosomiques ou polychromosomiques, soit que cette confluence se produise dès le début, soit qu'elle s'effectue seulement plus tard.*

En réalité, nos figures s'expliquent mieux en admettant qu'une assez grande variété règne chez le *Trillium*, dans la formation des karyomérites, au double point de vue du nombre primitif des vésicules et du moment de leur confluence. Rappelons que Hecker (1902), entre autres, signale une semblable variété dans le cyclope.

2. Comment se forment les vésicules?

Sur cette question, nos préparations nous fournissent des renseignements complets. On peut dire que les phénomènes qui se passent ici sont analogues à ceux que présentent, dans les cinèses méristématiques, les extrémités chromosomiques qui s'alvéolisent isolément au sein du cytoplasme.

Les phénomènes se rattachent à deux chefs : l'origine de la membrane vésiculaire et la transformation intime des bâtonnets.

a) *Origine de la membrane vésiculaire.*

La *membrane*, encore ici, est d'origine cytoplasmique, elle est constituée par une couche périphérique de cytoplasme condensée. On s'en rend facilement compte en observant les images semblables à celle de la fig. **22**. Les deux chromosomes de ce dessin sont plongés chacun dans une vésicule qui les contourne d'un côté, mais qui les dépasse assez notablement de l'autre (*). Grâce à une semblable disposition, la distinction est nette entre la vésicule et le chromosome, et on observe facilement que la membrane n'appartient pas à ce dernier, mais que plutôt le bâtonnet *plonge* réelle-

(*) Cela s'observe mieux, pour le chromosome d'en haut, en un plan inférieur à celui qui a été choisi pour le dessin.

ment dans une vacuole. D'ailleurs, la lamelle qui ferme la vésicule est achromatique et fait nettement corps avec le cytoplasme. La membrane vésiculaire est donc cytoplasmique.

Rappelons d'ailleurs que les extrémités chromosomiques isolées des cinèses méristématiques, dont nous avons parlé dans notre première partie, forment de véritables vésicules partielles. Or, la membrane y est aussi certainement cytoplasmique, ainsi que nous l'avons vu.

Quant aux travées chromatiques qui, dans la FIG. **22**, rattachent le corps du bâtonnet à la membrane, elles s'expliquent naturellement de la façon dont nous avons interprété une semblable disposition dans les cinèses méristématiques. Elles sont dues à un étirement de la substance chromosomique demeurée adhérente en certains points au cytoplasme, lorsque le liquide nucléaire s'est déposé entre ce dernier et le bâtonnet lui-même.

Une remarque encore au sujet de la membrane des vésicules. Sa nature étant celle que nous venons de dire, on comprend aisément comment se réalise *la confluence de plusieurs caryomérites*. Il se produit là simplement ce qui a lieu lorsque plusieurs vacuoles quelconques se réunissent en une seule.

b) *Transformation des chromosomes.*

Les modifications dont les chromosomes sont le siège et qui donnent naissance au réseau sont essentiellement identiques à celles que subissent les bâtonnets des télophases méristématiques.

Ce n'est pas non plus en s'allongeant, en se repliant sur eux-mêmes, en s'anastomosant, en dégageant des «granulations» autonomes, que les bâtonnets reforment la structure du repos. Les chromosomes, ici encore, deviennent autant de réseaux élémentaires, dont la juxtaposition constitue le réseau total.

Voyons de plus près la nature des modifications chromosomiques. C'est encore à une alvéolisation progressive qu'elles se ramènent. Les FIG. **22**, **23**, **24**, **25**, le montrent clairement. Seulement, l'alvéolisation qu'on pourrait appeler extrachromosomique, c'est-à-dire celle qui se produit sur les bords du chromosome, entre celui-ci et le cytoplasme, — amenant ainsi une sorte d'entaillement marginal du bâtonnet, — acquiert une grande importance, ainsi que le montre la FIG. **22**. C'est une accentuation des phénomènes que nous avons vu se produire dans les cinèses méristématiques à la surface des chromosomes marginaux ou des extrémités chromosomiques isolées dans le cytoplasme.

De plus, le résultat de l'alvéolisation est ici une structure qui n'est ni vraiment alvéolaire, ni vraiment réticulée, mais qu'on pourrait appeler *spongieuse*, constituée de *lamelles* plus ou moins larges, plus ou moins épaisses, réunies entre elles en un réseau, FIG. 25.

Enfin, dans les télophases les plus avancées que nous ayons vues, rien ne rappelle des granulations autonomes. La structure est faite d'une trame uniforme, visqueuse et spongieuse.

Nous pouvons donc conclure que, dans le *Trillium*, une *vésicule chromosomique* n'est qu'une *vacuole au sein de laquelle le chromosome, baignant dans l'enchylème nucléaire, se transforme par alvéolisation en un réseau spongieux.*

Nous ne nous arrêterons pas ici à revoir et discuter toutes les descriptions de caryomérites. Nous noterons seulement la connexité de nos observations avec celles de MEVES (95 et 01) et BROMAN (00).

TROISIÈME PARTIE.

Questions complémentaires.

Chapitre I.

Reconstitution du noyau par caryomérites.

Dans son excellent ouvrage sur la cellule, Wilson (00 et 02) semble établir une différence fondamentale entre les télophases ordinaires et celles qui comportent la formation de vésicules ou caryomérites : « The nature of « this process (la reconstitution du noyau) differs greatly in different kinds « of cells. Sometimes, as in the epithelial cells of amphibia, ... and in many « plant-cells, the daughter chromosomes become thickened, contorted, and « closely crowded to form a *daughter-spireme*, closely similar to that of the « mother-nucleus; this becomes surrounded by a membrane, the threads « give forth branches, and thus produce a reticular nucleus ... In other « cases, as in many segmenting ova, each chromosome gives rise to a hollow « vesicle, after which the vesicles fuse together to produce a single nucleus » (02, p. 71).

Nos observations sur le *Trillium* montrent que, entre les télophases ordinaires et les télophases à caryomérites, il n'y a pas de différence essentielle.

1. La première divergence fondamentale concernerait le peloton-fille proprement dit, le spirème continu, dont la formation serait l'apanage de la reconstitution ordinaire des noyaux. Or, nous avons montré que, dans le *Trillium*, il ne se forme de peloton-fille dans aucun cas.

2. On pourrait assigner comme seconde différence essentielle la particularité qu'on exprime parfois en disant que, dans beaucoup de blastomères,

chaque chromosome « *se transforme* » en une vésicule, ce qui ne se produit pas dans les cinèses ordinaires. Nos observations sur le *Trillium* montrent que la formule n'est pas tout à fait exacte. La « *vésicule chromosomique* », en effet, n'est pas le bâtonnet transformé, mais une vacuole dans laquelle *plonge* ce dernier, de même que dans les télophases ordinaires, la « *vésicule nucléaire* » est une vacuole, dans laquelle plonge l'ensemble des chromosomes.

3. Il reste un troisième point où l'on aurait pu trouver une divergence fondamentale; c'est que, dans les caryomérites, les chromosomes donnent parfois naissance à un réseau, tandis que dans les télophases typiques le réseau résulterait, d'après le schéma classique, d'anastomoses produites entre les bâtonnets. Or, nous avons vu que, dans le *Trillium*, chaque bâtonnet des cinèses méristématiques, — aussi bien que ceux de la cinèse homœotypique, — se transforme en un « réseau chromosomique ».

Pour ce qui concerne les processus essentiels de la reconstitution nucléaire, transformation des chromosomes et genèse de la membrane, il n'y a donc aucune différence capitale entre les télophases vésiculaires et les télophases typiques. La *seule* divergence réside *précisément* et *simplement* en ce que, dans les secondes, il se forme, dès le début, une seule vacuole nucléaire, tandis que dans les premières, il s'en produit, dans le principe, un certain nombre.

Et cette différence même, il est clair qu'elle n'est pas nettement tranchée. En effet, non seulement dans le *Trillium*, mais dans plusieurs autres objets, on observe tous les termes d'une transition graduelle entre le cas d'un nombre de vésicules égal à celui des chromosomes et le cas d'une seule vacuole nucléaire initiale.

Comment peut-on rendre compte de cette différence? Les vésicules ne s'observent pas dans toute catégorie de cinèses. Chez le *Trillium*, on ne les rencontre que dans les cinèses homœotypiques (*) ; chez les animaux, dans la reconstitution du pronucléus femelle et dans les premières segmentations. Quelle est donc, dans ces cinèses, la particularité qui y provoque l'apparition de caryomérites?

Voyons d'abord quelle est la *cause immédiate* de cette différence entre

(*) Nous ne nous occupons pas ici de la cinèse hétérotypique.

les cinèses d'un même objet. Nous pensons qu'elle réside *simplement* dans la différence de position réciproque des chromosomes, au moment où se dépose le liquide nucléaire. Ce dernier se dépose *strictement* autour des chromosomes. Si ceux-ci sont tassés, il se forme, dès le début, une seule vacuole nucléaire contournant l'amas des bâtonnets et portant des évaginations qui correspondent à des saillies chromosomiques. Si les bâtonnets sont isolés, il se forme un plus ou moins grand nombre de caryomérites, d'après les degrés variables du rapprochement des différents chromosomes.

Cette explication a le mérite de pouvoir rendre compte des formes de transition dont nous avons parlé plus haut (*).

Il faut aller plus loin et nous demander maintenant à quoi tient la position des chromosomes, au moment où se dépose le liquide nucléaire, position variable d'une espèce de cinèse à l'autre, dans la même plante, mais plus ou moins constante pour une même espèce de cinèse? Conklin (02), reprenant l'opinion de Rückert (95), attribue la distribution éparpillée des bâtonnets dans les télophases des blastomères à la succession rapide des divisions : dans ces circonstances, les chromosomes-filles soutireraient le liquide nucléaire au protoplasme environnant, dès avant la fin de l'anaphase. La reconstitution du noyau serait très précoce, devançant le groupement des bâtonnets au pôle du fuseau.

Peut-être cette opinion contient-elle une part de l'explication véritable. Cependant, prise à elle seule, elle nous paraît insuffisante. En effet, on n'observe pas des caryomérites dans toutes les cinèses à court intervalle (ex. : les cinèses méristématiques et toutes les cinèses homologues de celles où on a décrit des vésicules). De plus, le pronucléus femelle, qui passe

(*) Montgomery (01) explique la formation des vésicules d'une façon toute spéciale. L'auteur admet que le « peloton » demeure continu dans son substratum achromatique durant tout le cours des cinèses somatiques en général, mais qu'il se brise durant les cinèses de maturation pour l'accomplissement de la réduction numérique. Montgomery, remarquant qu'on n'observe les vésicules que dans les cinèses consécutives aux cinèses de maturation, en attribue la formation à ce que, en ce moment de l'ontogénèse, les liens ne sont pas encore rétablis entre les différents bâtonnets.

Cette explication n'est certainement pas applicable aux végétaux. En effet, nous n'observons, dans aucune cinèse, le peloton persistant dont parle l'auteur américain. Les chromosomes sont aussi indépendants les uns des autres dans une cinèse méristématique du *Trillium* que dans la télophase homœotypique De plus, si l'explication de Montgomery était la vraie, on devrait rencontrer des caryomérites dans toute cinèse succédant à la réduction numérique; on devrait donc en observer non seulement dans tout début de segmentation de l'œuf, mais aussi dans toute reconstitution nucléaire des tétraspores végétales. Or, les microspores du *Trillium* en offrent le premier cas pour les végétaux.

souvent par un assez long temps de repos, se reconstitue, souvent aussi, par caryomérites.

Nous pensons qu'il faut *surtout* attribuer la formation de vésicules à des circonstances indépendantes des conditions physiologiques de la cinèse et principalement à la nature du fuseau.

Le tassement polaire, — et par conséquent la formation initiale d'une seule cavité nucléaire, — se produirait lorsque le cône terminal du fuseau est assez étroit; dans les cas où il est assez élargi, les bâtonnets demeureraient isolés et donneraient naissance à un plus ou moins grand nombre de caryomérites.

Nous ajouterons qu'il faudrait peut-être aussi, conjointement avec l'organisation du fuseau, tenir compte du nombre et des dimensions des bâtonnets.

D'après ce qui précède, on pourrait donc aisément ramener à l'unité les différentes télophases que l'on observe dans le *Trillium*, et cela de la façon suivante.

La reconstitution du noyau dans le *Trillium* comprend deux séries de phénomènes : dépôt de liquide nucléaire autour et au sein des chromosomes; transformation de ces derniers en bandes alvéolaires-réticulées. Le dépôt de suc nucléaire peut provoquer la formation d'une ou de plusieurs vacuoles initiales suivant que les chromosomes, autour desquels il s'accumule, sont, — probablement par suite de l'organisation variable du fuseau, — réunis en un amas polaire ou séparés les uns des autres.

Chapitre II.

Autonomie des chromosomes.

L'hypothèse qui porte ce nom adopte, comme on sait, la conception suivante : les chromosomes qui apparaissent à une prophase donnée ne seraient pas autre chose que les chromosomes-filles de la cinèse précédente; ceux-ci, après être devenus quelque temps *indiscernables* dans le réseau quiescent, *se dégageraient* ensuite de nouveau, non pas évidemment dans l'état où ils se trouvaient à la télophase antérieure, mais accrus et modifiés pendant le repos cinétique. Le noyau, dans cette façon de voir, serait donc, en toute rigueur, une *réunion des chromosomes*, et ceux-ci, — *les*

véritables constituants chromatiques de la cellule, — auraient le rang d'organites autonomes, se transmettant d'une cellule à l'autre par voie de bipartition.

Touchant cette question, nos observations n'apportent pas de constatation nouvelle absolument décisive; elles contiennent néanmoins plusieurs données intéressantes qui nous paraissent *donner une grande vraisemblance à l'hypothèse de l'autonomie*, — pour ce qui concerne notre objet, — et que nous croyons utile de recueillir ici. Nous prions le lecteur de ne pas les considérer isolément, mais de les grouper en un seul faisceau.

1. Nous avons déjà vu que, ni dans les cinèses méristématiques, ni à la télophase homœotypique, il ne se forme de peloton-fille. De même, la prophase des mitoses de la racine, — nous n'avons étudié que celles-là à ce point de vue, — ne comporte pas de stade de spirème continu.

Cette constatation, en partie nouvelle dans les plantes, ne démontre pas, il est vrai, l'autonomie chromosomique. Elle n'implique pas, en effet, nécessairement, une *continuité* entre les bâtonnets de la télophase et ceux de la prophase : le réseau pourrait, même dans cet état de choses, former, au début d'une cinèse, des chromosomes qui n'auraient de commun avec ceux de la mitose antérieure qu'une partie des matériaux dont ils sont constitués. Néanmoins, cette observation présente, nous semble-t-il, l'avantage d'écarter un obstacle sérieux à l'hypothèse de l'autonomie, dans les végétaux, et cela de la façon suivante. Nous n'ignorons pas qu'on peut considérer les bâtonnets comme autonomes, tout en admettant l'existence de spirèmes continus; c'est la façon de voir, entre autres, de STRASBURGER (92, p. 148; 94[1], p. 302; 94[2], p. 834) et, avec une modification, de MONTGOMERY (00, p. 348; 01, p. 218). Mais cependant il faut reconnaître que la conciliation entre ces deux points présente une certaine difficulté. Dans l'hypothèse de l'autonomie, en effet, il semble malaisé de se représenter la signification possible de ce stade de la cinèse où tous les chromosomes se souderaient bout à bout. C'est pourquoi l'absence de spirèmes continus est favorable à l'hypothèse de l'autonomie chromosomique, en ce sens qu'elle élimine une difficulté qu'on pourrait opposer à cette hypothèse si de tels spirèmes se produisaient.

2. Ainsi que nous l'avons vu déjà, le réseau nucléaire, à la fin de la télophase, est formé simplement par la *juxtaposition* de réseaux chromoso-

miques, chaque bâtonnet alvéolisé constituant une plage bien limitée du réseau général. Les différentes plages alvéolaires sont, il est vrai, rattachées par des anastomoses. Mais étant donnée l'origine de ces dernières, on peut dire que la réunion des chromosomes en un réseau unique est en quelque sorte accessoire et accidentelle et n'empêche pas que le réseau soit réellement la *juxtaposition* de bandes chromosomiques.

De plus, à la prophase, le réseau devient, *simplement* en se disloquant et en se partageant suivant certaines directions, une série de bandes chromosomiques, alvéolaires-réticulées, absolument semblables à celles de la télophase.

Il ne se produit donc pas, à la télophase, ainsi que l'admettent la plupart des auteurs, une sorte d'éparpillement de la substance chromosomique sur un réseau achromatique de nouvelle formation; et de même il ne doit pas se produire, à la prophase, une sorte de rappel des éléments chromosomiques ainsi dispersés. Il faut dire plutôt, — *sit venia verbis*, encore une fois, — que la télophase est : « réticulisation » des bâtonnets eux-mêmes, juxtaposition des réseaux ainsi formés, et que la prophase est : écartement de réseaux élémentaires et « homogénéisation » de ceux-ci.

Cela étant, il semble extrêmement naturel d'admettre que les bandes de la prophase sont celles de la télophase qui, après être devenues *indiscernables* durant le repos, se dégagent de nouveau par un mouvement de concentration inverse de celui d'alvéolisation qu'avaient subi les chromosomes du diaster.

En effet, il n'y aurait de raison pour ne pas l'admettre que si on observait entre deux cinèses consécutives un bouleversement, une confusion complète du réseau amenant un mélange de toutes ses parties. Or, il n'en est rien. La structure des noyaux demeure uniforme durant tout le repos, et la preuve en est que *tous* les noyaux que l'on observe présentent, au fond, une organisation identique.

Cette considération en faveur de l'autonomie des chromosomes repose donc, comme on le voit, sur la conception, nouvelle pour les végétaux, de l'origine du réseau et de la genèse des chromosomes dans le *Trillium*.

3. Strasburger (92, 94) a déjà fait valoir en faveur de l'autonomie chromosomique l'identité d'orientation des bâtonnets à la télophase et à la prophase. Nous allons exposer une considération semblable, mais un peu modifiée.

Dans le *Trillium*, les bandes chromosomiques du début d'une cinèse sont, il est vrai, *plus ou moins* parallèles entre elles. Néanmoins, elles ne sont pas, comme cela s'observe dans d'autres plantes, régulièrement orientées, côte à côte, dans une même direction. L'ensemble présente une certaine irrégularité, FIG. 9. Or, d'un côté, il semble que, si la dislocation du réseau n'était pas la réapparition de certaines unités autonomes qui le composent, si elle n'était qu'un *partage nouveau* du réseau lui-même, il semble, disons-nous, que cette dislocation devrait se faire très régulièrement, suivant des directions bien parallèles. D'autre part, au contraire, l'irrégularité dont nous venons de parler correspond très bien à la disposition assez désordonnée des bâtonnets à la télophase (voir p. 30) et s'explique très naturellement si ce sont ces derniers qui réapparaissent.

4. Enfin, nous avons vu aussi que certaines extrémités chromosomiques font saillie à la télophase sur le jeune noyau, FIG. 4, PHOT. 2. D'autre part, on retrouve de semblables prolongements chromosomiques à la prophase, FIG. 10, PHOT. 3. On saisit là, semble-t-il, sur le fait la permanence autonome de certains chromosomes. Il nous paraît, en réalité, difficile de ne pas voir, dans la FIG. 10, la réapparition d'une bande chromosomique de la télophase précédente.

Telles sont les données, nouvelles pour les végétaux, que contiennent nos observations.

Prises dans leur ensemble, et si on les rapproche du fait de la constance assez régulière du nombre des bâtonnets, elles nous paraissent donner une très grande vraisemblance à l'hypothèse de l'autonomie chromosomique, *pour ce qui concerne notre objet.* Nous nous en tenons là : nous n'avons pas l'intention d'étudier cette question à un point de vue général. Nous devrions discuter, dans ce cas, les données contradictoires de BOVERI, DELAGE et WILSON (*) sur le nombre des bâtonnets dans la segmentation mérogonique et dans la parthénogénèse artificielle ; les variations de nombre qu'on observe dans les différents noyaux du sac embryonnaire des liliacées (GUIGNARD, 91, SARGANT, 96); la réapparition du nombre normal dans les sporophytes qui se développent par voie agame sur le prothalle de certaines fougères apogames (STRASBURGER, 00, p. 88); les phénomènes si caractéristiques décrits par BOVERI (02) comme conséquence des cinèses pluripolaires;

(*) Il serait bien inutile de citer ici toute la littérature de cette question difficile. Voir entre autres, BOVERI (01 et 02, note de la p. 72) et DELAGE (01 et 02).

la récurrence constatée dans plusieurs objets d'un certain nombre de chromosomes plus petits que les autres (STRASBURGER, 00, SUTTON, 02); enfin les variations du nombre des bâtonnets en général. La discussion de ces points ne pourra se faire qu'à la lumière de nouvelles observations. C'est pourquoi nous nous abstiendrons de l'entamer ici.

C'est le moment de dire un mot des anastomoses qui, à la prophase, réunissent les bandes chromosomiques. Nous venons de voir que, selon toute vraisemblance, ces dernières sont les bandes chromosomiques de la télophase précédente. Il en résulte que les anastomoses de la prophase sont aussi, vraisemblablement, du moins en partie, celles de la télophase antérieure. Nous disons : en partie. En effet, il a pu survenir entre les bandes chromosomiques de nouveaux contacts, amenant, lors de leur écartement prophasique, la formation de nouvelles anastomoses.

CHAPITRE III.

Structure des chromosomes, liquide nucléaire.

La structure des chromosomes soulève plusieurs questions, que nous avons négligées dans nos deux premières parties.

La première qui se présente naturellement à l'esprit concerne les rapports possibles entre la structure des chromosomes à la télophase et celle qu'ils ont possédée durant les premières étapes de la prophase. Nous avons dit que les bâtonnets-filles de la télophase *s'alvéolisent*. Ne pourrait-on pas dire plutôt que cette organisation alvéolaire n'est que la réapparition, — après avoir été quelque temps voilée, — d'une semblable structure des chromosomes-mères à la prophase. En d'autres termes, les bâtonnets deviennent-ils jamais entièrement homogènes? ne sont-ils pas *essentiellement* des *rubans alvéolaires*, en sorte qu'il faille définir par là l'organisation fondamentale des chromosomes (*)?

Cette dernière hypothèse nous avait d'abord paru plausible. Nous pensons maintenant qu'on ne pourrait pas la soutenir. Nous ne nions pas que, peut-être parfois, les chromosomes de la prophase puissent ne s'homogénéiser qu'imparfaitement; mais il est certain que, pour le moins dans la

(*) Nous n'entendons naturellement considérer ici que la structure visible au microscope et nous n'entrons pas dans la question de l'organisation profonde et intime des chromosomes.

plupart des cas, le chromosome ne garde aucune trace de son alvéolarité initiale, qu'il devient parfaitement homogène; que par conséquent il n'est pas essentiellement un ruban alvéolaire, et que, enfin, sa transformation télophasique est réellement une *alvéolisation*.

Voici nos raisons.

D'abord, c'est un fait que le plus souvent les chromosomes-mères et surtout les chromosomes-filles (*) sont tout à fait homogènes, sans offrir la moindre trace d'une organisation quelconque, FIG. **18** et **20**. De plus, les aspects mêmes de la concentration successive, FIG. **14-17**, montrent bien qu'il est impossible de partager le chromosome en deux rangées parallèles d'alvéoles, *ce qui serait nécessaire* si les bâtonnets-filles héritaient du bâtonnet-mère leur disposition alvéolaire; enfin, l'irrégularité des bandes alvéolaires de la télophase, surtout dans la cinèse homœotypique, nous semble trahir, à toute évidence, une véritable vacuolisation, faite, pour ainsi parler, au hasard.

Une seconde question concerne l'existence, autour du chromosome et l'enveloppant de toutes parts, d'une « gaîne » achromatique plastinienne telle que l'ont décrite, dans d'autres objets, CARNOY (84), HEINE (95), JANSSENS (01). Nous ne pensons pas que les chromosomes du *Trillium* soient revêtus d'une semblable gaine. En effet, nous n'en observons jamais aucun indice.

Nous avons conclu, il y a un instant, que les bâtonnets de la télophase subissent réellement une *alvéolisation*. Il serait intéressant de savoir d'où provient ce liquide qui se dépose dans les cavités alvéolaires. Il est évident que cette question est en rapport avec celle de l'origine du suc nucléaire extrachromosomique. Et on pourrait, sur ce point, faire deux hypothèses : une première admettrait que le liquide alvéolaire provient d'une transformation partielle de la substance chromosomique elle-même; ce liquide chromosomique, déversé à l'extérieur des bâtonnets, constituerait l'enchylème nucléaire, et provoquerait la formation de la vacuole du noyau ; dans une seconde hypothèse, le liquide nucléaire aurait une origine extrachromosomique, proviendrait soit de l'ancien suc nucléaire, soit de l'enchylème cytoplasmique, et ce serait en s'en imbibant que les bâtonnets se vacuoliseraient et acquerraient une organisation alvéolaire. Dans le premier cas, la production de l'enchylème serait la première manifestation

(*) Rappelons que le mouvement de concentration s'achève dans les bâtonnets-filles.

de l'activité chromosomique; dans le second cas, on pourrait peut-être expliquer en partie l'accumulation du liquide nucléaire aux pôles du fuseau par les courants cytoplasmiques qui ont été décrits plusieurs fois au sein des figures astériennes.

La solution de ce problème serait fort importante et aurait son contre-coup sur la conception physiologico-morphologique qu'il faut se faire du noyau dans le *Trillium*. Mais nos observations sur cette plante ne nous permettent pas de prendre une position précise. Nous nous contentons ici de poser la question; nous attendons, pour y répondre, d'avoir étudié un plus grand nombre d'objets, et surtout d'avoir essayé des réactions micro-chimiques sur les noyaux en reconstitution. Nous recueillerons alors aussi les données de la littérature à ce sujet.

CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ.

Nous résumerons nos observations sous la forme d'une description schématique de la reconstitution nucléaire et de la formation des chromosomes définitifs (*) dans le *Trillium*; puis nous définirons l'organisation du noyau dans cette plante.

I. Télophase.

a) Dans les cinèses méristématiques.

Les chromosomes-filles, en se groupant au pôle du fuseau, se tassent les uns contre les autres.

Au sein de cet amas polaire et autour de lui se dépose le liquide, — dont nous n'avons pas recherché ici la provenance, — qui va constituer l'enchylème du noyau et provoquer la formation de la vacuole nucléaire.

Celle-ci est limitée par une couche cytoplasmique périphérique (Hautschicht) constituant la membrane.

La cavité nucléaire ne contient que les chromosomes (**). Aucune portion de filaments cytoplasmiques n'y est enfermée pour constituer le caryoplasme (***).

Les chromosomes s'écartent bientôt les uns des autres au sein de l'enchylème nucléaire, mais demeurent reliés les uns aux autres par des anastomoses chromatiques. Ces dernières sont produites par un étirement de certaines portions marginales de deux bâtonnets voisins, demeurées en contact.

Les chromosomes, sans former de spirème continu, s'alvéolisent graduellement, donnant ainsi naissance à autant de *réseaux élémentaires*, dont la

(*) Définitifs, nous voulons signifier par là les chromosomes prêts à se ranger à l'équateur, et par conséquent constitués déjà de deux chromosomes-filles.

(**) Abstraction faite des nucléoles qui ne tardent pas à apparaître.

(***) Cette conclusion s'appuie à la fois sur l'étude de la télophase et sur celle de la prophase.

juxtaposition constitue le réseau total. La structure de celui-ci, alvéolaire ou réticulée, dépend du degré d'alvéolisation des bâtonnets.

Cette transformation télophasique des chromosomes n'est pas la réapparition d'une structure qui n'aurait été que voilée durant la période de métaphase. Elle consiste en une véritable alvéolisation ou vacuolisation.

La reconstitution du réseau ne comporte pas la réapparition de corpuscules chromatiques autonomes. Les soi-disant « granulations » des réseaux chromosomiques ne sont que des parties renflées d'une trame générale uniforme.

b) Dans la cinèse homœotypique.

La télophase de la cinèse homœotypique du *Trillium cernuum* a cela de remarquable qu'elle offre le premier exemple, dans les végétaux, d'une reconstitution nucléaire par caryomérites, mono- ou polychromosomiques.

Un caryomérite est une vacuole limitée par une couche membraneuse cytoplasmique et dans laquelle plonge un, — ou plusieurs, — chromosome transformé par alvéolisation en un réseau élémentaire.

Dans les deux façons de télophase, la télophase ordinaire et la télophase à caryomérites, les phénomènes essentiels de la reconstitution nucléaire sont les mêmes : formation de la membrane, absence de peloton-fille, alvéolisation des bâtonnets. La seule différence réside *précisément* dans le nombre de vacuoles nucléaires qui se forment au début; et ce nombre, qui présente d'ailleurs toutes les variétés, dépend uniquement de la position réciproque des bâtonnets au moment où se dépose l'enchylème nucléaire. Cette position, à son tour, doit peut-être s'expliquer surtout par la constitution variable des cônès polaires du fuseau.

II. Prophase.

Les phénomènes sont la répétition, dans un ordre inverse, de ceux de la télophase.

Il ne se forme pas, par la confluence de granulations chromatiques sur certains tractus du réseau, un spirème continu constitué d'un substratum achromatique portant des disques nucléiniens.

Le réseau se disloque simplement en autant de tranches, en autant de bandes alvéolaires-réticulées, qu'il doit se former de chromosomes.

Autonomes dès le début, ces bandes, en ramassant, en concentrant leur substance chromatique éparse dans les lamelles de leur trame, deviennent des bâtonnets homogènes, *sans aucune structure granulaire véritable.*

Il est très vraisemblable que les bandes chromosomiques de la prophase ne sont que les bandes identiques de la télophase précédente, qui, après être devenues « *indiscernables* », *mais non confondues*, dans le réseau du repos, se dégagent de nouveau au début de la cinèse. Non seulement donc le réseau *naîtrait* par la juxtaposition de réseaux chromosomiques, mais il *ne serait que cela*, durant tout le repos : une réunion de bandes chromosomiques juxtaposées.

La division longitudinale n'a pas son prélude dans un clivage axial de disques chromatiques; elle consiste simplement dans le partage, en deux moitiés longitudinales, d'un ruban chromatique.

Voici donc *ce qu'est un noyau* dans le *Trillium*, abstraction faite des nucléoles — : *une vacuole limitée par une couche membraneuse cytoplasmique, remplie d'un enchylème dans lequel plonge un réseau chromatique alvéolaire-réticulé, formé d'une trame homogène, sans distinction morphologique entre un substratum achromatique et des granulations chromatiques; ce réseau, qui prend naissance par la juxtaposition de réseaux élémentaires chromosomiques, garde vraisemblablement durant tout le repos ce caractère composite et il faut probablement le définir comme une association de chromosomes alvéolisés et réticulisés.*

Note additionnelle.

Pendant que ce mémoire était à l'impression, nous avons reçu les numéros d'avril et de mai de la *Botanical Gazette* contenant, le premier, un article de Mottier (*), et le second, un mémoire de A. Lawson (**). Il ne sera pas inutile de nous y arrêter un instant.

Mottier étudie à nouveau les cinèses de maturation dans les phanérogames. Nous n'avons donc à relever ici que certains points de son travail.

D'abord, l'auteur a observé, plusieurs fois, pp. 264 et 266, le *tassement polaire* des bâtonnets.

De plus, il décrit, ainsi que nous venons de le faire nous-mêmes pour les cinèses somatiques, une réticulisation des bâtonnets à la télophase hétérotypique. Cette donnée est à ajouter encore à celles que nous avons recueillies plus haut, p. 23, en confirmation de notre description (***).

Enfin, Mottier maintient encore, du moins en règle générale, son opinion ancienne touchant la formation d'un spirème continu, à la télophase, par l'aboutement des chromosomes-filles, p. 257. Nous remarquerons d'abord que la fig. 10, à laquelle l'auteur renvoie le lecteur, montre simplement — en haut, à gauche — deux extrémités chromosomiques rapprochées l'une de l'autre. Cela ne nous semble pas suffire, — ainsi que nous l'avons dit plus haut, p. 38, — à établir la thèse; d'autant plus que les autres chro-

---

(*) Mottier, D. M. : *The behavior of the chromosomes in the spore mother-cells of higher plants and the homology of the pollen and embryosac mother-cells;* Bot. Gaz., April 1903.

(**) Ansthruter A. Lawson : *On the relationship of the nuclear membrane to the protoplast;* Bot. Gaz., May 1903.

(***) Nous ferons toutefois remarquer que nous ne sommes pas bien convaincus que la fig. 36 de l'auteur se rapporte à la télophase. Nous serions plus enclins, — sans vouloir *en aucune façon* trancher la question, — à y voir des aspects de la concentration des bandes chromosomiques à la prophase.

mosomes du même diaster ne semblent pas du tout disposés à s'abouter en un spirème continu, et il en va de même de la fig. 11. De plus, comment se comporteraient, pour former un peloton unique, les chromosomes constitués d'un V double. L'auteur a éprouvé la difficulté de cette disposition au point de vue de son interprétation, et il admet, avec quelque réserve, que les deux V-sœurs glisseraient l'un sur l'autre de façon à pouvoir s'abouter. Ce transport des bâtonnets-filles nous paraît assez invraisemblable. Notons enfin que l'auteur lui-même admet, p. 257, un « spirem... interrupted in many places » dans le *Lillium* et que, pour le *Tradescantia*, la fig. 36 démontre plutôt, — si toutefois elle appartient à la télophase, — la non-formation d'un spirème continu.

Dans son mémoire, Lawson décrit la télophase de la cinèse hétérotypique dans le *Passiflora* et celle des cinèses sporogoniales de l'*Equisetum*, dans le but surtout d'élucider l'origine de la membrane nucléaire. D'après l'auteur, les bâtonnets arrivés au pôle se fusionnent en une seule masse chromatique. Ensuite, au sein de ce grumeau, on voit se déposer le suc nucléaire en un certain nombre de lacunes, qui, dans le *Passiflora*, confluent en une seule vacuole centrale repoussant la nucléine à la périphérie de l'amas polaire. L'enchylème nucléaire continuant à se déposer, il en résulte deux choses. D'abord, la masse chromatique est fragmentée en tronçons et tend ainsi à prendre la disposition caractéristique du repos. Ensuite, en venant en contact avec le cytoplasme, la caryolymphe provoque la formation de la membrane nucléaire, qui est ainsi certainement d'origine cytoplasmique. Telle est la description de Lawson.

Touchant l'origine de la membrane du noyau, nous sommes tout à fait d'accord avec l'auteur. Comme lui, nous nous sommes ralliés à l'opinion de Strasburger. L'avantage du *Trillium* a été de nous permettre d'étudier des dispositions semblables à celles où on avait cru voir une origine chromosomique de la membrane nucléaire et de les ramener au schéma de Strasburger.

Touchant la transformation des chromosomes, nous ne pouvons pas nous rencontrer avec Lawson. C'est à tort, selon nous, que l'auteur admet une fusion des chromosomes en une seule masse chromatique et une fragmentation ultérieure de celle-ci par suite du dépôt de l'enchylème nucléaire.

Nous ne nions pas absolument que le tassement polaire ne puisse aller parfois jusqu'à un contact tellement intime des bâtonnets qu'on ne sache

plus les *discerner*. Mais ce qui est certain pour tous les objets que nous avons étudiés, c'est que, toujours, après le tassement polaire, les chromosomes redeviennent nettement reconnaissables, nos FIG. **3** et **4**, et que, par conséquent, il n'y a eu ni fusion ni fragmentation subséquente, mais simplement rapprochement étroit des bâtonnets et ensuite leur écartement grâce au dépôt, *entre eux*, de suc nucléaire. De plus, cette interprétation est bien celle qui nous semble s'appliquer aux figures de l'auteur pour l'*Equisetum*. Enfin, nous ferons encore remarquer que, dans les cinèses étudiées par MOTTIER au cours du travail que nous venons de citer, le tassement polaire est aussi suivi par le *dégagement* des chromosomes.

Par ce qui précède, nous ne voulons pas nier le processus que LAWSON a décrit pour le dépôt de l'enchylème nucléaire, commençant par une lacune centrale et se propageant ensuite vers la périphérie. Nous voulons simplement exprimer notre conviction qu'il ne se produit pas de fusion des bâtonnets et que, par conséquent, les tronçons chromatiques que l'auteur considère comme provenant de la fragmentation d'une masse fusionnée ne sont que les chromosomes du diaster dégagés les uns des autres.

LISTE BIBLIOGRAPHIQUE.

97. *Belajeff* : Einige Streitfragen in den Untersuchungen über die Karyokinese; Ber. d. deutsch. Bot. Gesells., Bd. 15.

98. *Belajeff* : Ueber die Reductionstheilung des Pflanzenkernes; Ber. d. deutsch. Bot. Gesells , Bd. 16.

88. *Boveri* : Zellenstudien, II.; Jenaische Zeits., Bd. 22.

01. *Boveri* : Merogonie (Y. Delage) und Ephebogenesis (B. Rawitz), neue Namen für eine alte Sache; Anat. Anz., Bd. XIX.

02. *Boveri* : Ueber mehrpolige Mitose als Mittel zur Analyse des Zellkerns; Verh. d Phys. Med. Gesells. zu Würzburg, Bd. XXXV.

00. *Broman* : Ueber Riesenspermatiden bei Bombinator igneus; Anat. Anz., Bd. 17.

84 *Carnoy* : La biologie cellulaire. Lierre.

02. *Coker* : Notes on the gametophytes and embryo of Podocarpus; Bot Gazette, vol. XXIII.

01. *Delage* : Recherches expérimentales sur les Echinodermes; Arch. de zool. expér et gén.

01. *Delage* : Noms nouveaux pour des choses anciennes; Arch. d. zool. expér., Notes.

98 *Eismond* : Sur la structure des chromosomes; Bibliographie anatomique.

01. *Ferguson, Margaret, O.* : The development of the egg and fertilization in Pinus Strobus; Ann. of Botany, vol. XV.

99. *Fischer, A* : Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas; Jena.

82. *Flemming* : Zellsubstanz, Kern- und Zelltheilung; Leipzig.

98. *Fulmer, Edw.* : Cell-division in Pine-seedlings; Bot. Gazette, vol. XXVI.

02. *Goldschmidt* : Untersuchungen über die Eireifung, Befruchtung und Zelltheilung bei Polystomum integerrimum; Zeits. f. wiss. Zool., Bd. 71.

99. *Grégoire, V.* : Les cinèses polliniques chez les liliacées; La Cellule, vol. XVI, 2.

91. *Guignard, L.* : Nouvelles études sur la fécondation; Ann. des Sc. Nat., Bot.

99. *Haecker, V.* : Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre; Jena.

02. *Haecker, V.* : Ueber das Schicksal der elterlichen und grosselterlichen Kernenteile, Morphologische Beiträge zum Ausbau der Vererbungslehre; Jen. Zeitschr., Bd. 39.

98. *Hof, C.* : Histologische Studien an Vegetationspunkten ; Botan. Centralbl., Bd. LXXV.

01. *Hottes, Ch.* : Ueber den Einfluss von Druckwirkungen auf die Wurzel von Vicia Faba ; Inaugural Dissertation.

01. *Janssens, F.* : La spermatogénèse chez les Tritons ; La Cellule, tome XIX, fascicule 1.

97. *Lee, A. Bolles* : Les cinèses spermatogénétiques chez l'Helix pomatia ; La Cellule, vol. XIII, 1.

95. *Meves, F.* : Ueber eine Metamorphose der Attractionssphaere in den Spermatogonien von Salamandra maculosa ; Arch. für mikr. Anat., Bd. 44.

96. *Meves, F.* : Ueber die Entwickelung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa ; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 48.

00. *Meves, F.* : Ueber den von V. la Valette St Georges entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen ; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 56.

02. *Meves, F.* : Ueber oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an Paludina und Pygœra ; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 61.

00. *Montgomery. Th.* : The spermatogenesis of Peripatus (Peripatopsis) Balfouri up to the formation of the Spermatid ; Zool. Jahrbücher, Bd. 14.

01. *Montgomery, Th.* : A study of the chromosomes of the Germ-cells of Metazoa ; Trans. of Amer. Philos. Soc., vol. XX.

97. *Mottier, D. M.* : Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwickelung des Embryosacks und die Vorgänge bei der Befruchtung ; Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 31.

99. *Nemec, B.* : Ueber die karyokinetische Kerntheilung in der Wurzelspitze von Allium cepa ; Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 33.

97. *Pfeffer, W.* : Pflanzenphysiologie, Bd. I ; Leipzig.

94. *Reinke, F.* : Zellstudien ; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 44.

01. *Reinke, F.* : Grundzüge der allgemeinen Anatomie ; Wiesbaden.

95. *Rosen* : Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzellen ; Cohn's Beiträge, Bd. VI.

98. *Schaffner, H.* : Karyokinesis in the root-tips of Allium Cepa ; Bot. Gazette, vol. XXVI.

01. *Schaffner, H.* : A contribution to the life-history and cytology of Erythronium ; Bot. Gazette, vol. XXXI.

02. *Schrammen* : Ueber die Einwirkung von Temperaturen auf die Zellen des Vegetationspunktes des Sprosses von Vicia Faba ; Verhandl. des naturhist. Vereins der preussischen Rheinlande, Jahrg. 59.

82. *Strasburger, E.* : Ueber den Theilungsvorgang der Zellkerne und das Zelltheilung ; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 21.

84. *Strasburger, E.* : Die Controversen der indirecten Kerntheilung; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 23.

88. *Strasburger, E.* : Ueber Kern- und Zelltheilung im Pflanzenreiche, nebst einem Anhang über Befruchtung; Hist. Beit., I, Jena.

92. *Strasburger, E.* : Ueber das Verhalten des Pollens und die Befruchtungsvorgänge bei den Gymnospermen — Schwärmsporen, Gameten, pflanzliche Spermatozoïden und das Wesen der Befruchtung; Hist. Beit., IV, Jena.

94, *Strasburger, E.* : Ueber periodische Reduktion der Chromosomenzahl im Entwicklungsvorgang der Organismen; Biol. Centralbl., Bd. XIV. — Le même en anglais dans Annals of Botany, vol. VIII.

97. *Strasburger und Mottier* : Ueber den zweiten Theilungsschritt in Pollenmutterzellen; Ber. der Deutsch. Botan. Gesells., Bd. 15.

00. *Strasburger, E.* : Ueber Reduktionstheilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich; Hist. Beit., VI, Jena.

02. *Strasburger, Noll, etc.* : Lehrbuch der Botanik; Fünfte Auflage, Jena.

02. *Sutton, W. S.* : On the Morphology of the Chromosome-groups in Brachystola magna; Biological Bulletin, vol. IV.

87. *Van Beneden et Neyt* : Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'Ascaride mégalocéphale; Bull. de l'Acad. Roy. des sciences, etc. de Belgique, IIIe série, Bd. XIV.

92. *Van der Stricht* : Contribution à l'étude de la sphère attractive; Arch. Biol., XII.

99. *Van Wisselingh, G.* : Ueber das Kerngerüst; Zweiter Beitrag zur Kenntniss der Karyokinese; Bot. Zeit., Bd. 57.

02. *Wilson, E.* : The cell in development and inheritance; Second Edition, New-York.

96 *Zimmermann, A.* : Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes, Eine kritische Litteraturstudie; Jena.

95. *Zacharias* : Ueber das Verhalten des Zellkernes in den wachsenden Zellen; Flora, Bd. 81.

EXPLICATION DES FIGURES ET PHOTOGRAMMES.

Grossissements : pour les fig. **1** à **21**, sauf la fig. **13** = 1/15 Koristka × oc. 12 = 1800; pour la fig. **13** = 1/15 × 18 = 2700; pour les fig. **22-25** = 1/15 × 8 = 1200

I. Méristème de la racine de Trillium grandiflorum.

FIG. **1**. Anaphase. Forme des chromosomes, en **V** incomplets. Début d'alvéolisation précoce, p. 15.

FIG. **2**. Tassement polaire, p. 15-16.

FIG. **3**. Enchylème nucléaire; anastomoses, p. 16. — Début de l'alvéolisation des chromosomes, p. 19. — Naissance de la membrane nucléaire, p. 26.

FIG. **4**. Chaque bâtonnet est devenu une bande alvéolaire, p. 19. — Extrémités chromosomiques indépendantes, p. 30.

FIG. **5**. Noyau quiescent de la région centrale, p. 12.

FIG. **6**. Idem, partie du réseau.

FIG. **7**. Réseau de la zone extérieure du périblème, p. 13.

FIG. **8**. Réseau de la zone sous-méristématique, p. 13.

FIG. **9**, **10** et **11**. Début de la prophase; bandes chromosomiques, p. 34. — Dans ces figures, quelques extrémités libres sont réellement telles, p. 45, d'autres sont dues à une section du rasoir.

FIG. **12-17**. Divers aspects de la concentration et de l'homogénéisation des bandes chromosomiques, p. 36. La fig **13** a été prise avec la combinaison 1/15 × oc. 18, G = 2700.

FIG. **17**BIS. Portions de chromosomes en concentration, montrant certaines parties minces, p. 37.

FIG. **18**. Chromosomes homogènes et non encore divisés longitudinalement, p. 41.

FIG. **19**. Divers aspects de la division longitudinale des bâtonnets, p. 42.

FIG. **20**. Chromosomes définitifs, p. 41-42.

FIG. **21**. Chromosomes définitifs montrant déjà le premier début de l'alvéolisation télophasique, p. 20.

II. Télophase homœotypique des microsporocytes du Trillium cernuum.

FIG. **22**, **23**, **24**, **25**. Divers aspects de la reconstitution nucléaire avec vésicules indépendantes ou presque indépendantes; alvéolisation des chromosomes; absence de peloton-fille, p. 48.

PHOT. **1**. Tassement polaire.

PHOT. **2**. Télophase. Bandes alvéolisées. On voit, dans le chromosome gauche du noyau inférieur, les travées chromatiques qui rattachent le corps du bâtonnet à la membrane achromatique, invisible. — Comparez FIG. **4**.

PHOT. **3**. Prophase. Bandes alvéolaires. Le chromosome inférieur fait hernie dans le cytoplasme.

PHOT. **4**. Le noyau dont une portion a été représentée dans les FIG. **12** et **13**. Bandes en mouvement de concentration.

PHOT. **5**. Télophases homœotypiques. Divers aspects de vésicules. En bas, le noyau qui a été représenté dans la FIG. **23**.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction 7

PREMIÈRE PARTIE.

Cinèses méristématiques du Trillium grandiflorum.

Chapitre I. *Noyau au repos* 10
1. Élément chromatique 10
2. Membrane nucléaire 14
3. Caryoplasme et enchylème nucléaire 14

Chapitre II. *Télophase* 15
§ I. Tassement polaire 15
§ II. Apparition de l'enchylème nucléaire; formation des anastomoses . . 16
§ III. Alvéolisation des chromosomes; formation du réseau 19
A. Description des phénomènes 19
B. Conclusions touchant la structure du repos 22
C. Littérature 23
§ IV. Formation de la membrane nucléaire 26
§ V. Caryoplasme 29
§ VI. Peloton-fille 29

Chapitre III. *Prophase.* 33
§ I. Formation des chromosomes 34
A. Description 34
B. Littérature 39
§ II. Division longitudinale 42
§ III. Peloton-mère 44

DEUXIÈME PARTIE.

Télophase de la cinèse homœotypique dans le Trillium cernuum.

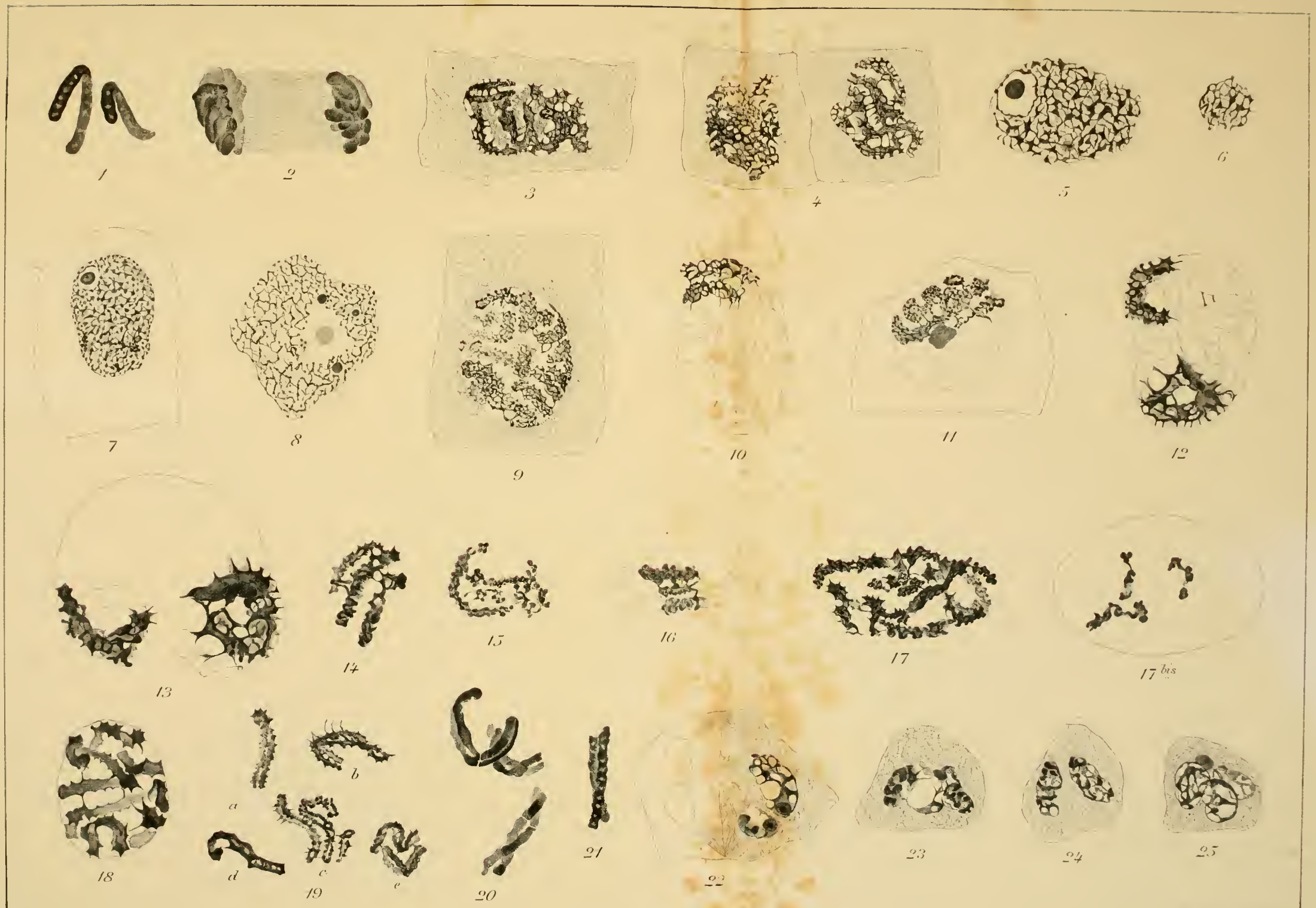
1. Disposition des chromosomes 48
2. Comment se forment les vésicules 49
A. Origine de la membrane vésiculaire 49
B. Transformation des chromosomes 50

TROISIÈME PARTIE.

Questions complémentaires.

Chapitre I. *Reconstitution du noyau par caryomérites* 52
Chapitre II. *Autonomie des chromosomes* 55
Chapitre III. *Structure des chromosomes, liquide nucléaire* 59

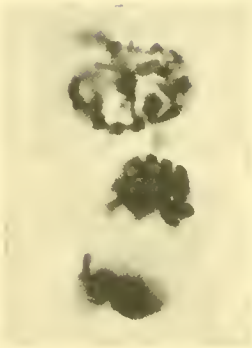
Conclusions et résumé 62
Note additionnelle 65
Liste bibliographique 69
Explication des figures 73



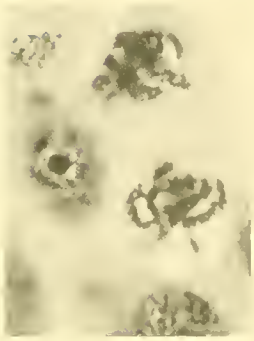
Berghs & Cie nat. Schin

Lith. D. Tolosa et fratres Bruxelles

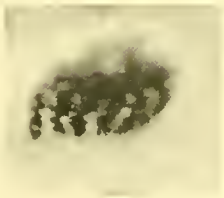
F. Van Muyden



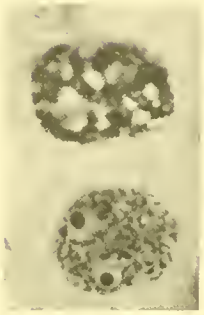
1



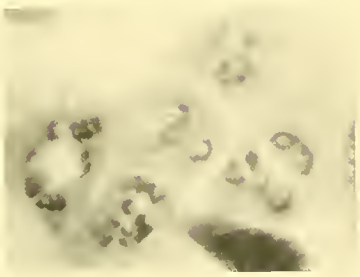
2



3



4



5

J. Berghs phot

La Structure du Spermatozoïde

DE

L'HELIX POMATIA

PAR

A. BOLLES LEE

(Mémoire déposé le 1 juin 1903.)

La Structure du Spermatozoïde de l'Helix pomatia

INTRODUCTION.

Les spermatozoïdes achevés de l'*Helix pomatia* sont, comme on sait, du type dit filiforme, étant environ cinq cents fois plus longs que larges. Ils mesurent, en effet, en moyenne 1000 microns, soit un millimètre, en longueur, sur 2 microns au plus de largeur moyenne. Il est facile de reconnaître en eux trois régions principales, à savoir : une région antérieure, ou « tête », une région postérieure, que j'appellerai le « corps », et une moyenne, que j'appellerai région cervicale, ou « cou », FIG. **1** et **2**.

Si je ne donne pas à la région postérieure le nom de « queue », comme l'ont fait d'autres auteurs, c'est pour le motif que voici. Dans le langage ordinaire, on appelle « queue » la région ou l'organe absolument terminal d'un organisme allongé. Or, la portion du spermatozoïde achevé de l'escargot que j'appelle le corps est bien la partie la plus postérieure ou terminale de cet élément *à l'état adulte;* mais il n'en est pas ainsi si nous considérons l'élément inachevé. En effet, les spermatides, pendant toute la durée de l'évolution qui les transforme en zoospermes, possèdent au-delà de la région qui répond au « corps » de l'adulte un appendice terminal en forme de cil puissant qui paraît mériter la dénomination de « queue ». En conséquence, la région sur laquelle cet appendice s'insère doit logiquement être appelée « corps », et il paraît raisonnable de lui conserver cette appellation même après que, par la chute du cil qui a lieu à la fin de la métamorphose, elle est devenue en réalité terminale.

Les mots « cou » et « région cervicale » me paraissent propres à désigner la région qui unit une « tête » à un corps; je dirai plus loin les motifs pour lesquels je ne donne pas à cette région le nom de « pièce intermédiaire » ou « Mittelstück ».

Les FIG. 1 et 2 sont destinées à donner une idée générale de l'apparence que présentent ces éléments à un examen fait à un grossissement insuffisant. On peut leur comparer la FIG. 3, copiée d'après PLATNER.

Les spermatozoïdes pris dans la glande hermaphrodite se sont toujours montrés à moi parfaitement immobiles. Ceux que l'on retire du canal hermaphrodite montrent souvent au contraire des mouvements serpentins très élégants et assez rapides (le corps se pliant alternativement à droite et à gauche), de sorte qu'ils peuvent traverser une distance égale à leur propre longueur en quelques secondes. Ils exécutent souvent aussi des mouvements de rotation autour de leur axe, mais cela ne constitue pas leur mode principal de progression. L'assertion contraire de PLATNER (1) me paraît fort exagérée. Ils peuvent vivre pendant des heures dans de la lymphe de l'animal additionnée de bleu de méthylène, lequel en les teignant légèrement ci et là peut faciliter l'observation. Mais dans la lymphe additionnée de rouge Congo, ils ne vivent en général que quelques minutes. Pendant la vie, ils s'entrelacent volontiers et se groupent fréquemment en phalanges très régulières, les têtes alignées les unes à côté des autres avec une grande régularité. Souvent ils balancent leurs têtes à droite et à gauche, lentement ou rapidement, pendant longtemps. Tous ces mouvements, souvent fort compliqués et étrangement coordonnés, simulent d'une façon tout à fait déconcertante des actions d'organismes animés.

(1) PLATNER *Die Struktur und Bewegung der Samenfäden bei den einheimischen Lungenschnecken*. Inauguraldiss., Göttingen, 1885.

Chapitre I.

La Tête.

La tête a une forme conique allongée. Plus exactement, elle est ce que les entomologistes appellent « subulée », ou « en alène ». Elle n'est pas aplatie, mais présente partout une section approximativement circulaire, FIG. **29**. Elle n'est pas d'une forme parfaitement régulière, car elle montre presque toujours une légère flexion ou torsion, comme le montrent les FIG. **14** à **20**. Elle a une longueur de 13 à 15 microns, et une largeur maxima de 1 1/2 à 2 microns (1). Le plus souvent, la plus grande largeur est située un peu au-dessus de la base.

Elle accuse une division assez facile à constater en deux régions. L'une d'elles, qui se distingue sur la cellule vivante par sa réfringence supérieure, s'étend de la base de la tête jusqu'aux trois quarts de sa longueur, ou même plus. La portion restante, plus mate, se présente comme une pointe ou épine terminant la première, mais se continuant postérieurement au-dedans d'elle. En d'autres termes, la portion réfringente enveloppe partiellement la portion mate comme l'involucre d'un gland de chêne enveloppe le fruit. J'appellerai la portion réfringente « l'exosome », et la portion mate « l'endosome ». Et dans cette dernière, j'appellerai « vertex » la pointe ou portion libre qui fait saillie au-dehors de l'exosome.

L'exosome (reconnaissable par son dessin spiralé, FIG. **14** à **20**) se colore *à l'état frais* en rouge par le picrocarmin, en vert pur par le vert de méthyle acide, le corps du spermatozoïde ne se colorant pas, ou, s'il se colore, prenant une teinte pourpre (2). Il ne se colore pas d'habitude dans les colorants plasmatiques, tels que le rouge Congo ou le bleu de méthylène. Il se colore quelquefois à la vérité dans le bleu de méthylène, mais alors

(1) Les mesures se rapportent aux éléments vivants; les têtes montées dans le baume donnent toujours des mesures plus petites, FIG. **22**, **24** et **25**.

(2) Pour obtenir la coloration de l'exosome par le vert de méthyle, il convient d'opérer en masse sur du matériel exposé à l'action d'une quantité considérable du colorant dans un verre de montre. En agissant seulement sur de petites quantités de matériel *sous verre à couvrir*, on obtient difficilement une coloration satisfaisante.

c'est *en vert*, ou bleu verdâtre, et non en bleu comme les corps des spermatozoïdes. L'endosome au contraire ne se colore pas par le vert de méthyle, et prend tout au plus une coloration extrêmement faible dans les colorants plasmatiques. Je crois qu'on peut admettre que toute la nucléine du zoosperme s'est concentrée dans l'exosome.

L'exosome n'est pas sans structure. Il montre à sa surface une sculpture en relief, consistant en deux côtes ou cordons plats, parallèles, courant à sa surface en une spirale dextrorse de la base de la tête jusqu'au sommet de l'exosome, FIG. **14** à **20**.

Il y a bien *deux* de ces côtes, et non une seule. Pour faciliter au lecteur l'étude des images, souvent fort difficiles, qui s'y rapportent, j'ai numéroté les côtes dans la FIG. **16**. Elles peuvent avoir une largeur de 1 micron environ vers la base de la tête, et vont en s'amincissant insensiblement vers le sommet. Chacune d'elles fait de deux tours et demi (FIG. **14**, **15**, **17**, **18**, **19**) à trois tours (FIG. **16** et **20**), ou même plus, autour de la tête : ce qui donne en tout de quatre à six élévations se présentant sur chaque contour de la tête dans les coupes optiques, figures citées. Elles décrivent toujours la même spirale, c'est-à-dire une spirale montant de gauche à droite, dans tous les échantillons que j'ai observés (1).

Les deux côtes ou cordons sont toujours strictement parallèles, et enroulées en conséquence toujours dans le même sens autour de la tête. Pour s'en convaincre, il est nécessaire de mettre au point très exactement sur la surface de la tête; on obtient alors l'image des FIG. **14**, **15**, **16**. Si l'on met au point plus bas, sur la coupe optique de la tête, on risque d'obtenir en même temps l'image d'une portion de côte montant de gauche à droite à la surface supérieure de la tête, et celle de la portion suivante de la même côte montant de droite à gauche à la surface inférieure. On croit alors voir deux côtes se croisant, et l'on obtient l'image illusoire d'un dessin en losange, comme celui des FIG. **17**, **18**, **19** et **20**.

Les côtes sont, comme on le voit d'après les figures, toujours d'un relief assez bas, ne faisant jamais fortement saillie au-dessus du niveau général de la tête, mais il y en a qui sont plus élevées que d'autres. Elles sont sensiblement plus marquées dans les spermatozoïdes pris dans le canal herma-

(1) Il m'est arrivé de croire que j'avais devant moi des têtes possédant trois côtes au lieu de deux, mais cette observation ne m'a jamais paru certaine, et il me semble maintenant que c'est là une illusion provoquée par l'étude de têtes ayant des spires très étroites et rapprochées, comme celles de la FIG. **16**, ce qui en rend l'observation sensiblement plus difficile.

phrodite que dans ceux qui sont encore dans la glande; dans ceux-ci, il est toujours plus difficile, quelquefois impossible, de les voir. Leur relief varie aussi d'un escargot à un autre : chez quelques individus, on les aperçoit facilement avec des objectifs tout à fait faibles, comme par exemple le D de Zeiss, tandis que chez d'autres il ne faut rien moins qu'un objectif de grande ouverture et de première qualité pour les mettre en évidence.

D'après mes observations, elles représentent seulement une sculpture en relief de la *surface* de l'exosome, et non un élément étranger qui lui serait appliqué au dehors, car je n'ai jamais pu voir qu'elles trahissent leur présence d'une façon quelconque vers l'intérieur de la tête. C'est pourquoi je les ai appelées surtout « côtes », plutôt que « cordons ».

Leur écartement est en général tel qu'elles ne laissent entr'elles qu'un espace minime; elles se touchent presque ou entièrement, comme le montrent les figures. L'espace ainsi ménagé entr'elles se présente comme une gouttière étroite. Cette gouttière contient, ou peut contenir, une substance qui la remplit quelquefois seulement en partie, quelquefois entièrement, de manière à donner à la tête, dans les préparations non colorées, un contour uni. Cette substance est susceptible de s'imprégner sur le vivant, en un bleu magnifique, par le bleu de méthylène, fig. 20 (1). Les préparations ainsi faites montrent avec beaucoup d'évidence la forme triangulaire de la section de la gouttière. Lorsque cette imprégnation est très complète, on peut croire au premier abord que la tête entière s'est colorée, les côtes aussi bien que les gouttières, mais un examen attentif montrera toujours qu'il n'y a que les gouttières qui sont colorées.

Je crois que cette substance n'est autre chose que les restes de la membrane cellulaire (avec peut-être un peu de membrane nucléaire?) fortement appliquée contre la tête, de manière à remplir les interstices entre les côtes. On rencontre souvent des spermatozoïdes munis d'un capuchon formé évidemment par une portion de membrane cellulaire boursouflée et soulevée autour de la tête; or, dans ces cas, le bleu de méthylène n'imprègne pas les gouttières.

En avant, l'exosome se termine brusquement, comme le montrent les figures, et ne se continue pas, en s'amincissant insensiblement, sur le vertex.

En arrière, il s'infléchit de manière à fournir à la tête une base tronquée creusée d'une cavité en godet, ou *cavité cotyloïde*, qui loge la dent, ou pro-

(1) Pour obtenir cette réaction, il faut employer une solution *forte* du bleu de méthylène.

longement odontoïde du corps, dont il sera question dans la description du cou. Ces choses sont dites de l'exosome en gros, car je n'ai pas pu déterminer avec certitude si les côtes se terminent, en avant et en arrière, librement et chacune pour soi; ou si elles s'y fusionnent entr' elles, ou bien disparaissent insensiblement en tant qu'élévations de la surface générale de l'exosome. L'exosome est moins épais à la base de la tête, ainsi qu'au sommet, que dans la région intermédiaire.

La cavité cotyloïde est formée par une inflexion de l'exosome, et n'est pas un simple trou foré dans la base de la tête. On peut constater avec évidence, surtout dans les têtes colorées et examinées dans le baume, FIG. **22**, **23** et **24**, qu'elle est séparée de l'intérieur de la tête par un plafond voûté, dont le contour se continue par ses bords avec celui de l'exosome. Elle est tantôt large et peu profonde, FIG. **22** et **24**, tantôt plus étroite et beaucoup plus profonde, FIG. **23** et **26**. Elle ne contient, en fait d'éléments figurés, que le prolongement odontoïde, c'est-à-dire *qu'elle ne loge aucun granule*, ou « *corpuscule* » ou « *centrosome* » quelconque (1).

La tête n'est pas limitée à sa base par un plan exactement à angle droit avec son axe majeur, mais est taillée obliquement, FIG. **23**, **24** **25**. Cette particularité ne s'observe naturellement que lorsque la tête se présente dans une certaine position, et n'est pas très évidente dans les figures faites sur le vivant, qui n'ont pas été dessinées dans le but de la mettre en évidence. Elle est souvent beaucoup plus accentuée qu'elle ne le paraît dans aucune de mes figures.

Les côtes doivent être étudiées sur des cellules vivantes, ou sur des cellules qui ont été colorées à l'état frais par le vert de méthyle acide et montées dans le liquide de RIPART et PETIT. On peut les voir sur les coupes, mais pas avec une netteté qui permette d'en faire une étude un peu satisfaisante. Même la forme générale de la tête est souvent sérieusement altérée dans le baume, tandis que dans le liquide de RIPART et PETIT la plupart des détails, même les plus délicats, de tout le spermatozoïde sont conservés avec une grande fidélité.

(1) Si quelquefois elle peut paraître en contenir, cela est dû le plus souvent à ce que le prolongement odontoïde, la tapissant exactement, vient à se confondre optiquement avec ses parois, de sorte que le tout vient à simuler un globule coloré, p. ex. FIG. **25**. Il se peut aussi qu'une matière amorphe, peut-être un liquide qu'elle contient, arrive à se colorer par les réactifs et simuler ainsi un globule vaguement aperçu. Je soupçonne fort que de semblables colorations ont contribué à entretenir la croyance à un « centrosome » logé dans le cou ou « Mittelstück ».

Dans les coupes de matériel fixé au mélange de FLEMMING et coloré par la safranine, les têtes montrent souvent une réaction métachromatique, se colorant en orange ou en jaune sale au lieu de rouge.

Les spermatozoïdes de l'*Helix hortensis* et ceux de l'*H. nemoralis* montrent la même structure des têtes que ceux de l'*H. pomatia*.

Les côtes en spirale n'ont été vues, apparemment, que par un seul observateur, PLATNER, qui les figure dans le travail cité dans l'introduction, ici FIG. 3, et les décrit brièvement comme « schräg verlaufende schattenartige Streifen ». Il ne mentionne pas la différentiation de la tête en exosome et endosome, et ses dessins montrent les côtes se continuant jusqu'à la pointe extrême de la tête, ce qui est inexact, et montant de droite à gauche (au lieu du contraire), ce que je n'ai jamais vu.

Une figure de ces spermatozoïdes a été publiée plus récemment par NUSBAUM (1), qui paraît ne pas avoir observé les côtes.

L'endosome se présente, en tant qu'il est visible au-dehors de l'exosome, comme une épine délicate qui le coiffe, comme le montrent les figures. Cette portion émergente, ou *vertex* de l'endosome, est longue de 3 à 4 microns, et large de 0,75 à 1 micron à sa base. Elle est parfaitement homogène, très mate, et incolorable, ou au plus très faiblement colorable, à l'état frais. Dans les coupes, elle se montre quelquefois aussi fortement colorée que l'exosome, en conséquence plus que la portion recouverte par lui, FIG. **25**. Mais c'est là une exception, due, je pense, à ce que, en ces cas, la matière colorante n'a pas suffisamment pénétré à l'intérieur de la tête pour colorer de la même intensité la portion recouverte. Le vertex est tantôt droit, FIG. **14**, **28** au milieu, **20**, tantôt légèrement flexueux, FIG. **15**, **17**, **28** à gauche, **16**, **18**. Il offre presque toujours des contours parfaitement unis. Je lui ai vu une ou deux fois une indication très faible de différentiation spiralée, comme j'ai essayé de le rendre en la FIG. **28** à droite, mais je regarde cette apparence comme étant plutôt accidentelle; en tout cas, elle n'indique pas une continuation des côtes sur le vertex.

Il paraît se terminer le plus souvent par une pointe émoussée, FIG. **14**, **19**, **27**, **32**; mais j'en ai vu de nombreux qui se terminaient par une pointe parfaitement effilée. Très souvent aussi, ils se montrent terminés par un petit bouton un peu plus réfringent que le reste, FIG. **16**, **17**, **20**. Ce bouton paraît être un renflement de la substance propre du vertex, comme un bouton de fleuret, et non un corpuscule autonome qu'il porterait. Car il lui

(1) NUSBAUM : Anatomischer Anzeiger, XVI, 1899, p. 178.

adhère si fortement que, même après des jours de macération, il ne se détache pas. Je penche à croire qu'il n'est autre chose que le reste d'un *filament procéphalique*, ou prolongation très effilée du vertex, dont les spermatides sont munies pendant les derniers stades de leur évolution, FIG. **30** et **31**. J'ai rencontré un spermatozoïde vivant qui portait un filament procéphalique aussi long que la tête entière.

Souvent le vertex est recourbé en crochet, FIG. **27**.

Quant à la portion de l'endosome qui demeure recouverte par l'exosome, je ne puis donner tous les renseignements que je voudrais. Elle n'est certainement pas à considérer comme étant simplement le contenu amorphe de l'exosome, car elle possède une limite propre. Dans les coupes transversales des têtes, pourvu que celles-ci ne soient pas trop fortement colorées, cette limite se montre nettement sous la forme d'une ligne très fine, un peu irrégulière, formant un cercle souvent largement séparé du contour intérieur de l'exosome. Ainsi dans la FIG. **29**, qui représente une coupe colorée par le Kernschwarz suivi de safranine, on voit au dehors un cercle noir, plus épais à gauche qu'à droite (image d'une côte spiralée intéressée par la coupe à gauche), qui est l'exosome coloré en brun rouge. Ensuite vient un large cercle clair, qui est dans la préparation d'un rouge clair, et qui doit représenter un liquide ou substance interstitielle. Enfin, au centre on voit un disque plus foncé, bordé d'une croute fine ou sorte de membranule évidente. Ce disque, d'un rouge pur dans la préparation, est la coupe de l'endosome. Après d'autres méthodes de préparation, les mêmes images se présentent : ainsi, après l'hématoxyline ferrique, avec la seule différence que les teintes sont alors des tons de gris au lieu de rouge.

Il est beaucoup plus difficile de saisir le contour de l'endosome dans les vues de profil des têtes couchées dans le plan de la préparation. J'ai pu l'apercevoir bien des fois, mais pas avec une netteté suffisante pour me permettre de reconnaître de quelle façon exactement il se comporte vers la base et vers le sommet de l'exosome. Je crois qu'on peut admettre que l'endosome est un sac membraneux allongé, mais sans pouvoir dire exactement quelle forme il a, surtout sans pouvoir dire si à la base il se moule sur le toit de la cavité cotyloïde, ou non.

L'étendue qu'occupe l'endosome dans la tête est plus ou moins considérable selon le mode de préparation. Elle est d'habitude plus grande que dans la FIG. **29**, et très souvent telle qu'elle remplit l'exosome presqu'entièrement.

Les descriptions précédentes se rapportent surtout à l'aspect des spermatozoïdes étudiés sur le vivant, ou au moins à l'état frais dans un liquide « indifférent », cette manière d'étude étant de beaucoup la plus sure et la plus fructueuse. Je dirai cependant deux mots sur les apparences qu'ils présentent dans le baume.

La FIG. 24 représente la tête et une petite portion du corps d'un spermatozoïde de l'ovotestis, après fixation dans le liquide de FLEMMING et coloration à l'hématoxyline ferrique. La forme générale de la tête est à peu près bien conservée ; elle est cependant légèrement gonflée, étant un peu plus large qu'il ne le faudrait pour sa longueur. On remarquera qu'elle est moins longue que celles des figures au même grossissement faites d'après des cellules vivantes ; elle ne mesure en effet que 10 microns de longueur, au lieu de 12 à 14. Cela est incontestablement un effet d'une contraction causée par le genre de préparation, contraction qui a presque toujours lieu plus ou moins dans les têtes montées au baume, et cela d'une façon très marquée dans les préparations qui ont été montées depuis longtemps ; dans les préparations fraîchement montées, elle est moins évidente, comme je m'en suis assuré à plusieurs reprises par des mesures faites sur des cellules marquées.

On remarquera que, à l'encontre des figures faites d'après des cellules vivantes, la tête présente ici des bords noirs à double contour. C'est la coupe optique de l'exosome, coloré en noir par l'hématoxyline, l'endosome étant seulement d'un gris pâle. (Ceci est la coloration typique de l'hématoxyline ferrique sur du matériel fixé au mélange de FLEMMING ; avec du matériel fixé par des liquides favorables aux colorations plasmatiques, tels que le sublimé ou le liquide de BOUIN, la tête peut devenir entièrement noire dans toute son épaisseur). On remarquera facilement comment ce contour double extérieur s'infléchit à la base de la tête pour former la cavité cotyloïde. Les côtes en spirale sont tout juste visibles sur la tête.

Le corps *s'est séparé de la tête*, ce qui arrive *très souvent* dans les coupes. On remarque dans ces cas que le cylindre porte en avant le processus odontoïde, tandis que la cavité cotyloïde est vide. C'est ce qui arrive toujours, ou presque toujours, dans ces désarticulations ; le processus odontoïde *demeure en place sur la massue du cylindraxe, auquel il appartient*, et non à la tête. Il est d'habitude nettement visible ; le ligament cervical, au contraire, *qui a été brisé par la désarticulation*, ne l'est presque jamais.

Le cylindraxe est coloré en noir, au même degré environ que l'exosome.

Le vertex de la tête est pâle, n'étant pas plus coloré que l'endosome. C'est ce qui arrive le plus souvent dans ces colorations; cependant il peut arriver que cet élément retienne la couleur aussi fortement que l'exosome, comme c'est le cas pour la FIG. **25**, qui est tirée de la même coupe.

Les coupes de matériel fixé par le mélange de FLEMMING, ou par les autres mélanges osmiques usuels, et soumises à la coloration régressive par une couleur basique, montrent des têtes ayant une apparence assez semblable. Cependant, par la safranine par exemple, la distinction entre l'exosome et l'endosome est moins prononcée, ce dernier se colorant presque aussi fortement que le premier, de sorte que toute la tête paraît rouge (ou orange). Le cylindraxe demeure d'habitude incolore; cependant j'en ai rencontré qui étaient colorés en rouge par la safranine, même après une extraction acide très énergique. Les côtes en spirale sont un objet très difficile dans le baume. J'ai étudié des coupes de l'ovotestis pendant des années sans les avoir jamais aperçues, jusqu'à ce que l'acquisition d'un nouveau condensateur (1) me les a révélées aussitôt. C'est le matériel fixé au formol picrique de BOUIN qui me les a montrées le mieux.

CHAPITRE II.

Le Corps.

Le corps est composé d'un cylindre axile, *cyl.*, FIG. **14**, légèrement spiralé, c'est-à-dire contourné en tire-bouchon, et contenu dans une gaîne cylindrique, *ex.*, FIG. **14**, spiralée comme lui. Je commencerai par décrire les apparences que présentent ces éléments dans les cellules vivantes, et ensuite j'en reprendrai la description en y ajoutant les détails nouveaux fournis par l'étude de préparations fixées et colorées.

Mesuré près de la tête, le cylindre axile, ou *cylindraxe*, a environ 1 micron d'épaisseur. Il s'amincit insensiblement vers son extrémité postérieure, et se termine avec une épaisseur de 0.5 à 0.75 micron. En longueur, il mesure d'un bout à l'autre, sans tenir compte du fait que sa torsion en tire-bouchon lui donne en réalité une longueur plus grande, au moins 1000 mi-

(1) L'apochromatique de POWELL et LEALAND que j'ai recommandé dans mon mémoire sur *L'éclairage et l'emploi du Condensateur*, La Cellule, XIX, 1er fasc., 1902, p. 418.

crons, c'est-à-dire que le spermatozoïde achevé a atteint la longueur d'un millimètre environ (1).

Il est contourné en tire-bouchon, comme nous l'avons dit. Ses spires élégantes, FIG. **1** et **2**, ont, sur le vivant, une longueur de 10 à 15 et même 20 microns, et une hauteur, difficile à mesurer, même à estimer, de 2 ou 3, mêmes figures. Leur hauteur, mais non leur longueur, diminue insensiblement de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure, de sorte que pendant les 10 à 20 derniers microns le cylindraxe est presque droit, FIG. **8** à **11**. Lorsque le zoosperme meurt lentement, il s'étale et ses spires s'effacent beaucoup, FIG. **4**, et peuvent même disparaître presque entièrement. Ce fait paraît indiquer que les spires ne constituent pas une formation morphologique persistante, mais représentent plutôt seulement un état physiologique, une phase tonique de contraction du corps.

La substance du cylindraxe est assez réfringente, évidemment très dense, car les spermatozoïdes sont si lourds que, quoique fort glutineux, ils n'adhèrent que très difficilement au verre-à-couvrir, mais tombent au fond de la préparation. Elle est, on peut dire, sans structure visible dans la cellule vivante, accusant seulement un certain aspect mat, qui peut être considéré comme une indication très vague de structure ultérieure.

En avant, le cylindraxe se termine au niveau du cou, ou région cervicale, par un *renflement en massue* bien évident, FIG. **14** à **21** et autres. Ce renflement présente en avant une sorte de plateau, du centre duquel s'élève une petite épine, le *prolongement odontoïde*, qui s'engage dans la cavité cotyloïde de la base de la tête, comme le montrent suffisamment les figures, surtout les FIG. **16**, **19**, **20** et **21**. Nous aurons à revenir sur ces détails lors de la description de la région cervicale.

En arrière, il se termine brusquement, se montrant tout à fait brusquement tronqué, et non effilé en pointe, FIG. **8** à **12**. Il présente un *bouchon terminal* défini, FIG. **9** à **12**.

(1) Il s'ensuit que pendant son évolution la spermatide a dû subir une croissance remarquable. L'étude de la spermatogénèse montre à l'évidence que la tête à elle seule représente au moins tout le volume du noyau de la spermatide, et que le corps cellulaire d'une jeune spermatide, longue d'une vingtaine de microns, a dû subir un allongement d'une cinquantaine de fois pour fournir le corps du spermatozoïde. Et il faut réfléchir en outre qu'il y a eu non seulement l'augmentation de volume indiquée par ces chiffres, mais aussi une augmentation très grande de masse. Car la substance du cylindre axile est énormément plus dense que le cytoplasme des spermatides. Ces faits sont évidents, et si j'insiste dessus, c'est parce que je vois qu'on les a niés *a priori*. En effet, j'ai rencontré quelque part l'assertion qu' « une spermatide ne peut pas croître » *(eine Spermatide kann nicht wachsen)*.

Ce bouchon se distingue de la portion précédente de l'axe par un aspect *moins* dense (sur le vivant), et en est nettement séparé par un plan droit. Il a tantôt la forme d'un bouchon de Bordeaux, FIG. 9, tantôt d'un bouchon conique de fiole, FIG. 11. Dans ce dernier cas, il peut montrer, dans les préparations longuement macérées dans de la lymphe additionnée de rouge Congo, un petit globule terminal fortement coloré, FIG. 10 et 12. Ce globule fait bien un peu l'impression d'être une goutte de liquide, et l'on pourrait être porté à croire qu'il ne serait qu'une exsudation provenant de l'intérieur du cylindraxe. Cependant, je ne suis pas éloigné de croire qu'il est tout simplement du rouge Congo précipité. En effet, cette couleur, en solution dans la lymphe, se précipite très volontiers en des globules ou granules semblables sur toutes les pointes ou aspérités des objets contenus dans les préparations.

Mais il se peut aussi que ce globule soit *un reste du cil terminal des spermatides;* car je me suis assuré que le bouchon lui-même n'est autre chose que le corpuscule polaire, ou, comme on pourrait peut-être mieux dire, le corpuscule *caudal* des spermatides, FIG. 13, transformé. Ce point de vue trouverait un certain appui dans le fait que j'ai observé, sur des spermatozoïdes vivants, des globules terminaux non colorés, ce qui écarte certainement pour ce cas l'hypothèse qu'ils ne seraient dus qu'à une précipitation de la couleur.

Le bouchon lui-même ne se colore d'une façon spécifique par aucun des réactifs que j'ai essayés.

Le cylindraxe est contenu, comme il a été dit plus haut, dans une gaîne cylindrique, spiralée comme lui. J'appellerai cette gaîne l'*exolemme*. L'image qu'elle présente sur la cellule vivante à un examen superficiel ressemble à s'y méprendre à celle d'une fibre enroulée en spirale autour du cylindraxe.

Cette image a été figurée il y a longtemps par PLATNER (1) et décrite par lui comme représentant une fibre réelle. J'ai reproduit ici, FIG. 3, le dessin qu'il en donne, parce qu'il m'est nécessaire pour les explications suivantes.

Cette image est celle d'une fibre indépendante, apparemment cylindrique, d'une épaisseur d'un quart de micron environ, serpentant autour du cylindraxe. Ses spires paraissent avoir une longueur sensiblement la même que celles du cylindraxe. Elles sont toutes d'une hauteur égale, si ce n'est

(1) PLATNER : *Struktur und Bewegung der Samenfaden bei den einheimischen Lungenschnecken.* Inaugural-Dissert., Gottingen, 1885.

que celle qui avoisine la tête est beaucoup plus haute que les autres, et que près de l'extrémité postérieure elles s'abaissent insensiblement et finissent le plus souvent par s'aplatir entièrement sur le cylindraxe et se confondre avec lui à une distance de trente ou quarante microns du bouchon terminal. J'ai cependant souvent pu les suivre entièrement jusqu'au bouchon terminal, FIG. **11**. Leur hauteur moyenne, sauf en ces deux positions, est de 0.5 à 1 micron, FIG. **1**, **2**, **4**, **10**, **11**.

D'après PLATNER, cette fibre supposée serait libre, c'est-à-dire ne serait reliée au cylindraxe par aucun ligament ou membrane d'aucune sorte. Cependant, dans les bonnes images, on distingue nettement, même sur la cellule vivante, comme une sorte de membrane qui la relie au cylindraxe sur toute sa longueur, FIG. **14** à **20**.

Ces images paraissent très réelles, il faut en convenir; et l'observateur qui viendrait à les constater, et qui se rappellerait le dessin et la description de PLATNER, pourrait être fort tenté de n'y voir que la simple confirmation de cette description et d'en demeurer là (1). Cependant, quelque probantes que puissent paraître ces images, elles ne sont qu'illusoires : la prétendue fibre spirale n'est pas une fibre du tout, elle n'est que l'expression optique d'une *gaîne cylindrique* qui enveloppe le cylindraxe, et dont *la paroi, vue en coupe optique*, simule une fibre indépendante.

En effet, à un examen plus critique on constate ce qui suit. L'image de la prétendue fibre se voit nettement tantôt à droite tantôt à gauche du cylindraxe, FIG. **14** à **20**, **10** et **11**. De plus, on la voit tantôt disparaître en plongeant au-dessous du cylindraxe, tantôt reparaître en remontant de l'autre côté, mêmes figures. Il y a donc certainement quelque chose de spiral qui serpente autour du cylindraxe. Mais on constate aussi qu'on n'obtient jamais une image correspondant exactement à celle de la prétendue fibre *ni au-dessus* du cylindraxe, *ni au-dessous*; au contraire, là où l'image de la fibre paraît devoir se montrer en projection au-dessus du cylindraxe ou au-dessous, *elle disparaît*, en donnant lieu à une traînée lumineuse et vague aussi large que le cylindraxe lui-même. De plus, si l'on suit exactement la direction de l'image de la prétendue fibre au moment où elle disparaît comme telle au-dessous ou au-dessus du cylindraxe, on constate qu'elle émerge de l'autre côté non en un point situé sur le prolongement de son trajet en cette direction, mais en un point plus rapproché de celui où elle a été perdue de

(1) C'est ce qu'a fait effectivement BALLOWITZ : Intern. Monatsschr. für Anat. u. Phys., Bd. XI, 1894, Hft. 5, p. 257.

vue, FIG. **2** ou **18**, par exemple. Or, une fibre réelle ne se comporterait pas ainsi. Elle se laisserait poursuivre comme telle, avec le même diamètre apparent, à travers l'image du cylindraxe transparent. Et surtout, elle reparaîtrait toujours de l'autre côté au point indiqué par la direction qu'elle avait au moment de s'engager au-dessus ou au-dessous du cylindraxe. Enfin, avec un peu d'attention et un bon éclairage, on arrive à mettre hors de doute que ce qui serpente autour du cylindraxe n'est autre chose qu'une *gaîne qui l'enveloppe* entièrement, qu'un tube transparent qui le contient dans son intérieur. Ou, ce qui revient au même, le cylindraxe serpente en spirale en dedans d'une gaîne cylindrique ou enveloppe tubulaire, en se tenant toujours appliqué contre la paroi de cette gaîne selon une ligne spirale. Là où règne cette ligne, la paroi de la gaîne ne peut pas se distinguer, parce qu'elle se confond avec le bord extérieur du cylindraxe. Mais vis-à-vis de cette ligne, elle se laisse distinguer, donnant au-dehors une coupe optique qui simule une fibre indépendante, et en dedans un dessin vague simulant un ligament ou membrane tendue entre cette fibre et le cylindraxe, FIG. **14** à **21**.

Cette portion intermédiaire est souvent très difficile à distinguer sur des cellules non colorées. Mais elle se laisse facilement mettre en évidence sur des cellules vivantes au moyen d'une teinture *intra vitam* par le rouge Congo (mieux que par le bleu de méthylène). Elle se montre alors portant par places un dessin pâle et vague consistant apparemment en des bandes transversales et obliques, FIG. **19** à **21**, qui font penser à première vue à des trabécules de cytoplasme. Cette apparence fait naître la pensée que ces bandes doivent être, en effet, des travées cytoplasmiques, et que l'exolemme lui-même ne serait autre chose qu'un fourreau de cytoplasme, un reste du cytoplasme de la spermatide.

Cependant il n'en est point ainsi. Les préparations heureusement colorées par l'hématoxyline au fer montrent à l'évidence, comme nous le dirons tout à l'heure, que ces bandes transversales sont l'expression d'un ruban en spirale, courant à l'intérieur d'une gaîne anhiste. Et même par l'étude attentive de la cellule vivante, colorée par le bleu de méthylène ou le rouge Congo, on peut reconnaître, quoique plus difficilement, qu'il en est ainsi.

La FIG. **4** rend assez bien l'apparence que présentent les cellules vivantes colorées par le bleu de méthylène ou rouge Congo (1).

(1) Cette figure n'est pas à la vérité faite d'après une cellule vivante, mais d'après du matériel frais, traité par le vert de méthyle acide et monté dans le liquide de RIPART et PETIT; ce procédé conserve avec une fidélité frappante les caractères même les plus délicats des cellules vivantes, tout en les accentuant légèrement.

On voit bien qu'elle est due à une fibre ou ruban qui serpente en spirale autour du cylindraxe, et que la membrane qui relie entre elles les spires de cette fibre ne montre plus une trace de structure; de sorte que ce qui entoure le cylindraxe *n'est pas une simple couche de cytoplasme, mais une formation histologiquement différenciée* (1).

En résumé, d'après les résultats de l'étude des spermatozoïdes *vivants ou frais*, leur corps serait composé d'un cylindre homogène, le cylindraxe, contenu dans un tube transparent, l'exolemme, le premier du moins de ces éléments paraissant être dépourvu de structure ultérieure. Nous allons maintenant voir, par l'étude de préparations *fixées et colorées*, que cela n'est point le cas.

Commençons par *la structure de l'exolemme*. La FIG. **32** nous montre la tête et une portion du corps d'un spermatozoïde qui, à la vérité, n'est pas achevé, mais qui est si fort avancé dans son évolution que tous ses éléments définitifs sont non seulement ébauchés, mais tout près de revêtir leur constitution définitive : leurs parties constitutives n'ont plus qu'à se rapprocher, se condenser et s'affermir, voilà tout! Or dans des cellules convenablement préparées de ce stade, l'exolemme se présente, comme le montre la FIG. **32**, comme un tube anhiste dont la paroi, excessivement mince, est garnie à sa surface intérieure de cette formation que le rouge Congo nous a fait voir, d'une *bande spirale*, que j'appellerai l'*exospire* (2).

---

(1) L'image illusoire d'une « fibre » spirale indépendante, — la « fibre » de PLATNER, — est celle que présentent les cellules vivantes normales observées dans la lymphe de l'animal, c'est-à-dire dans un liquide. Mais dans les régions où les préparations peuvent avoir été partiellement desséchées par l'inclusion d'une bulle d'air, ou dans des dissociations faites avec une lymphe qui ne convient pas aux cellules (la qualité de la lymphe de différents escargots varie beaucoup à cet égard), puis aussi dans certaines macérations, on obtient des images d'une autre sorte. L'exolemme dans ces conditions peut devenir plus réfringent, prend un aspect gélatineux et brillant, et se montre sous la forme de *deux* contours très fins, très brillants et très nets, courant le long du cylindraxe, FIG. **5**.

Dans cet état, les deux contours visibles peuvent en imposer pour *deux* fibres en spirale plus fines que la simili-fibre des cellules normales.

(2) Si l'on passe en revue le corps d'une cellule à ce stade en descendant vers l'extrémité caudale, on trouve souvent que, après s'être rétréci à quelque distance de la tête, l'exolemme, de distance en distance, se renfle de nouveau, présentant ainsi une succession de ventres et de cols plus étroits, FIG. **6**. Mais ce phénomène n'est pas constant, et ne se montre que dans des cellules du stade que nous considérons, c'est-à-dire des cellules qui sont en train de se dénuder de leur cytoplasme vers la tête, mais où ce processus n'est pas encore terminé. Je le considère comme étant dû au gonflement par les réactifs, agissant inégalement sur un exolemme incomplètement formé, non consolidé, et en conséquence spécialement délicat et sensible à l'action des réactifs.

Ce point de vue se trouve appuyé par l'observation des régions du corps de ces mêmes cellules plus près de l'extrémité caudale, là où l'exolemme est encore entouré de cytoplasme; ou

L'*exospire* est, près de la tête certainement, et sur tout le reste de son parcours probablement, une fibre *plate*, ou mieux un ruban. Ce ruban me paraît être très variable de largeur. Près de la tête, je lui ai trouvé dans la cellule de la FIG. 35 un demi-micron de largeur; dans la FIG. 32 un peu moins; dans la FIG. 34 il est beaucoup plus étroit, impossible à mesurer. Dans la FIG. 6, je lui ai trouvé, en haut, un tiers de micron. Je crois qu'en somme il diminue de largeur de la tête à l'extrémité postérieure, témoin la FIG. 13.

Il n'est pas rare d'observer que par places ce ruban se fend en deux, ainsi en *b*, FIG. 6, les deux moitiés ainsi formées se réunissant plus loin. Ce phénomène me paraît indiquer une structure ultérieure fibrillaire.

Il peut arriver que les deux moitiés d'un ruban ainsi fendu ne se réunissent qu'après plusieurs tours de spire, ou même pas du tout. Lorsque ce cas se présente, l'exolemme se montre garni de deux rubans au lieu d'un seul, FIG. 7. Ces deux rubans peuvent demeurer parallèles, FIG. 7, en bas, garnissant l'exolemme de spires si étroites qu'il peut être très difficile de les résoudre. Ou bien ils peuvent devenir divergents, et en ce cas la superposition des spires supérieures de l'un sur les spires inférieures de l'autre peut donner lieu à un dessin losangé, FIG. 7, en haut, comme nous avons vu que cela était le cas pour les côtes en spirale de la tête.

Les spires que décrit le ruban sont d'une longueur très variable, comme le montrent les figures qui ont été faites d'après des mesures aussi précises que possible. Il me semble qu'elles sont en règle générale plus ouvertes près de la tête qu'à l'extrémité postérieure; dans cette dernière région, elles deviennent le plus souvent si rapprochées qu'on a beaucoup de peine à les distinguer. Cependant très souvent on observe (dans des spermatozoïdes inachevés du moins, du stade des FIG. 6, 32) que, tout près du bouton caudal, l'exolemme se gonfle de nouveau, et alors les tours de l'exospire s'espacent et l'on peut les distinguer plus facilement, FIG. 13.

L'exospire est toujours appliquée exactement contre la face interne de l'exolemme et ne la quitte jamais. Il est certain que c'est à l'intérieur de la membrane exolemmaire qu'elle court, et non à l'extérieur; car là où on la voit en profil, elle ne détermine pas de bosse au-dehors de la membrane, mais plutôt une dépression du contour, comme si elle tirait la membrane

---

par l'observation de cellules un peu moins avancées, dont l'extrémité céphalique seule est dégarnie de cytoplasme. Car, dans ces deux cas, on remarque que là où l'exolemme est protégé par le cytoplasme qui l'entoure, son calibre est régulier.

en dedans. Il est difficile de dire si elle doit être considérée comme un élément autonome, ou comme un simple épaississement en spirale de la membrane exolemmaire.

Elle se colore, quelquefois très fortement, par l'hématoxyline ferrique.

Sa direction de torsion est la même dans toutes les cellules, et est de gauche à droite, comme pour les côtes de la tête et comme pour les tours de spirale que l'exolemme entier fait autour du cylindraxe.

Les FIG. **14** à **21** ont montré que l'exolemme dépasse en avant la terminaison antérieure du cylindraxe, et se porte en avant au-delà du cou, pour se perdre sur les contours de la tête. Il est à présumer que l'exospire l'accompagne.

Quant à la manière dont l'exospire se termine à l'extrémité postérieure du zoosperme, l'étude de cellules du stade de la FIG. **6** permet de constater avec une entière certitude que l'endostyle (v. plus loin) s'insère au centre du bouton caudal, que l'exolemme s'insère sur le bord de ce bouton, et que l'exospire l'accompagne jusqu'à son insertion, FIG. **13** (1).

Passons maintenant à l'étude de *la structure du cylindraxe*. Les mêmes figures que nous venons de passer en revue nous donneront les éclaircissements voulus. Dans la FIG. **32**, cet organe se présente comme un cône un peu foncé, en demi-teinte, pas noir, dont la base est appliquée contre la base de la tête et dont le sommet se perd dans la portion rétrécie de l'exolemme à une distance de 7 à 8 microns de la tête. On voit qu'il contient *deux fibres*, noires, tordues l'une autour de l'autre. Ces deux fibres se représentent également avec les mêmes caractères dans les FIG. **30** à **36**.

On remarquera que dans les FIG. **30** à **34** l'une d'elles, celle de gauche, aboutit au centre du plateau qui forme la terminaison antérieure du renflement claviforme, tandis que l'autre, celle de droite, aboutit au bord de ce plateau. J'appellerai la première, *l'endostyle primaire*, la seconde, *l'endostyle accessoire*.

Les deux fibres ont à peu près le même calibre, mesurant environ 0.2

(1) Le bouton caudal de la FIG. **13** a la forme d'un godet profond à parois très épaisses. A un stade antérieur, il a la forme d'un anneau plat, du centre duquel surgit un cil terminal, et est accompagné d'un anneau satellite, plus petit, embrassant l'endostyle, et éloigné d'une distance variable, 0,5 micron à 2 ou 3 microns, de l'anneau terminal. Dans d'autres cellules de la colonie d'où cette figure a été tirée, le cil terminal existe; je ne sais pas si la cellule de la FIG. **13** a perdu le sien par accident, ou naturellement; car c'est à ce stade environ qu'il disparaît habituellement. C'est à ce stade aussi que l'anneau satellite disparaît; je n'ai pas pu établir avec certitude ce qu'il devient, mais il me semble qu'il est résorbé sur place.

à 0.25 micron d'épaisseur; cependant l'endostyle accessoire, celui de droite, me paraît être d'habitude un peu plus fort que l'autre.

La FIG. 34 montre que l'endostyle primaire s'insère dans un bouton globuleux au centre du plateau, et que ce bouton a un diamètre de 0.5 micron environ. Les FIG. 33 et 36 montrent le même fait, et montrent en outre que l'endostyle accessoire s'insère de la même manière au bord du plateau sur un bouton globuleux; seulement ce bouton est ici plus petit. Ces faits sont normaux et typiques.

Les deux endostyles sont tordus l'un autour de l'autre, comme le montrent les figures. Leur premier croisement s'effectue à une distance de 2 à 5 microns de la tête, ou un peu plus; je crois que cette torsion se continue, avec des spires assez régulières de la même hauteur, pendant une distance assez considérable, mais sur ce point je ne puis donner des renseignements précis. Car tôt ou tard les deux fibres s'entrelacent si étroitement qu'on ne peut plus les distinguer séparément. Ainsi dans la FIG. 6, qui commence, je crois, à une trentaine de microns de la tête, on n'aperçoit qu'un seul endostyle courant dans l'exolemme. Mais on remarquera que cette fibre en apparence unique a en moyenne un *calibre plus fort* que celui des endostyles séparés des FIG. 30 à 36; d'où l'on peut soupçonner que ces endostyles en apparence uniques résultent de la fusion, optique ou réelle, de l'endostyle primaire avec l'endostyle accessoire.

L'endostyle, simple ou composé, serpente dans l'exolemme, se montrant tantôt à droite tantôt à gauche. Je crois qu'il est toujours appliqué contre la paroi de celui-ci, et qu'il ne la quitte jamais pour en traverser la lumière, si ce n'est aux deux extrémités, où l'on constate que du moins l'endostyle primaire la quitte pour s'insérer au centre du plateau antérieur, et au centre du bouchon caudal. J'ai déjà indiqué plus haut, FIG. 13, qu'il est certain que son insertion postérieure se fait de cette façon.

Les endostyles se colorent en noir par l'hématoxyline ferrique, et aussi, quoique moins fortement, par le carmin ferrique. Je les ai obtenus colorés par la safranine.

L'endolemme. Les endostyles sont revêtus (en dedans de l'exolemme) d'une gaîne anhiste, l'endolemme. Cette gaîne part, en avant, des bords du plateau antérieur du renflement claviforme, et se porte en arrière en diminuant graduellement de calibre, FIG. 32, 33, 34, 36, jusqu'à ce qu'elle devient invisible en s'appliquant étroitement sur les endostyles. Je ne vois aucun motif pour supposer qu'elle ne les accompagne pas, à titre de formation in-

dépendante, jusqu'au bouchon caudal; mais la suivre jusque là est optiquement impossible. L'espace entre cette membrane et les endostyles se remplit, à mesure que le spermatozoïde s'achève, d'une substance d'apparence granuleuse, ou plutôt très finement réticulée, FIG. 32, 33, 34. Cette substance se colore par l'hématoxyline ferrique. A mesure qu'elle se dépose, il devient de plus en plus difficile de distinguer les endostyles à l'intérieur de l'endolemme; et à la fin le tout revêt l'apparence d'un cylindre unique sans structure visible.

L'étude de préparations fixées et colorées a donc révélé les faits suivants : la gaîne extérieure du spermatozoïde, ou exolemme, n'est pas un simple tube de cytoplasme, mais une membrane tubulaire munie d'une bande spiralée, — l'exospire —; le cylindraxe n'est pas un cylindre homogène, mais consiste en un assemblage de deux fibres entortillées, — les endostyles, revêtues d'une gaîne propre, l'endolemme, qui contient en outre une matière granuleuse ou réticulée qui enrobe les endostyles.

On aura bien compris, j'espère, que l'exospire n'est pas la prétendue fibre spirale qu'on croit voir lorsqu'on observe un spermatozoïde vivant, et qui est figurée comme telle dans le dessin de PLATNER, mais un élément beaucoup plus petit, à spires beaucoup plus étroites, courant au-dedans de cette prétendue fibre, c'est-à-dire en dedans de la gaîne exolemmaire; et que le corps d'un spermatozoïde se compose, en comptant de dehors en dedans, des formations suivantes : 1° *peut-être* un reste de membrane cellulaire, 2° la membrane exolemmaire, 3° l'exospire, 4° l'endolemme, 5° la matière réticulée qui la remplit, 6° les deux endostyles.

Ce sont ces trois dernières ensemble qui composent le cylindraxe (1).

Les images que donnent *les coupes* des corps sont extrêmement variées, selon que la coupe est exactement transversale ou plus ou moins oblique, et selon qu'elle est orientée exactement dans le prolongement de l'axe du microscope ou plus ou moins inclinée.

La FIG. 38 montre une série de coupes aussi exactement transversales et aussi perpendiculaires que possible, prises dans la colonie qui nous a

(1) On se rappellera peut-être que PLATNER a donné dans le temps (Arch. f. mikr. Anat., XXV, p. 573) une description d'une spermatide qui montrerait *trois* fibres embrassant la fibre axile. L'une d'elles deviendrait sa « fibre » spirale. On peut penser que les deux autres seraient les deux endostyles. Je ne le crois pas, vu que ceux-ci ne sont pas visibles dans la cellule vivante, sur laquelle sa description est basée. La figure (fig. 26) qui accompagne sa description, est du reste pour moi inintelligible, et je ne puis m'imaginer quelle image il peut avoir eue sous les yeux en la dessinant.

fourni les FIG. **30** et **31**. Les deux coupes marquées *a* montrent, à un grossissement de 6000 diamètres, la section de deux spermatozoïdes à une dizaine de microns en dessous de la tête; les coupes marquées *b* sont prises à une distance de 7,5 microns environ plus bas; celles marquées *c*, à 7,5 microns plus bas que ces dernières; celles marquées *d*, à 7,5 microns plus bas encore; et celles marquées *e*, à 22,5 microns plus bas que *d*. On remarquera dans *a* la coupe des deux endostyles, qui sont très distincts, nettement séparés, l'un d'eux se présentant près du bord du cercle formé par la coupe de l'exolemme, l'autre plus au centre. Cette même disposition se retrouve dans *b*, *c* et *d*, avec cette différence que toute la figure est devenue graduellement plus petite, et que les deux endostyles *se sont rapprochés* en *d* au point de se toucher. Enfin, dans la coupe suivante, à 22,5 microns plus bas, les deux endostyles se sont confondus en un seul. Il en est de même pour toutes les autres cellules de cette colonie, avec la seule différence que pour quelques-unes d'elles la fusion s'est opérée un peu plus haut, à quelques microns plus près de la tête; mais on peut dire en somme que, pour cette colonie, elle s'est faite avec une grande régularité à une distance de 60 microns environ de la tête.

Ce chiffre ne signifie naturellement pas grand' chose; mais ce qui est plus important, c'est que les mesures micrométriques montrent que le moment où se produit la fusion apparente des deux endostyles, c'est-à-dire entre *d* et *e*, est précisément celui où ils se sont rapprochés au point que la résolution optique n'est plus possible pour nos instruments. En effet, l'écartement, de centre en centre, des endostyles de la figure *d* est de un quart de micron environ, ce qui est bien près de la limite actuelle de la résolution microscopique.

On remarquera que dans *a* les deux endostyles sont logés dans un disque vague un peu plus foncé que la lumière du tube exolemmaire. Il se peut bien que ce soit là la coupe de l'endolemme. Mais il est possible aussi que ce disque ne soit qu'un effet d'optique. Les autres figures, jusqu'à *d*, montrent une ombre généralisée s'étendant plus ou moins sur toute la coupe de l'exolemme. L'exolemme, qui dans cette colonie n'est colorée que faiblement par la Säurefuchsin, et n'a pris l'hématoxyline ferrique que tout près de la tête, FIG. **30** et **31**, ne montre pas de trace de l'exospire sur ces coupes.

La FIG. **42** représente une coupe qui montre bien l'exospire en même temps que la section des deux endostyles. La coupe est assez exactement transversale, et le spermatozoïde est placé presque verticalement dans la

préparation. La coupe passe à peu de distance, deux ou trois microns, au-dessous de la tête d'un spermatozoïde achevé, ou du moins tout près de l'être. On voit la section des deux endostyles, situés l'un au centre, l'autre au bord, d'un cercle nettement limité, l'endolemme, *endol.* Le contour de l'exolemme, *exol.*, représente un ovale au lieu d'un cercle, ce qui provient de ce que, pour pouvoir suivre l'image de l'exospire, on a dessiné la coupe optique oblique de l'exolemme, en abaissant la mise au point. On voit l'exospire, *ex. sp.*, se profilant en long en dedans de la coupe optique de l'exolemme à gauche, et en bas montant droit vers l'observateur sous la forme d'une petite barre couchée dans l'angle contenu entre l'exolemme et l'endolemme. Ces images de l'exospire vues par le bout peuvent donner lieu à l'illusion d'un troisième endostyle.

On remarquera que l'endostyle accessoire paraît un peu allongé : cela provient de ce qu'il n'est pas exactement vertical dans la coupe, comme l'est l'endostyle primaire.

La FIG. 40 est destinée à représenter les images que fournissent les coupes qui ne sont pas transversales, mais obliques. En ce cas, il s'agit d'un spermatozoïde placé presque verticalement dans la préparation, et offrant des coupes n'ayant qu'un léger degré d'obliquité. La figure *a* représente la surface de section réelle, et *b* et *c* deux coupes optiques successivement plus profondes. On remarquera qu'en *a* les deux endostyles, très rapprochés, sont contenus dans un ovale un peu foncé, qui est la coupe oblique de l'endolemme. En *b*, cet ovale est devenu plus clair et plus allongé, et les endostyles se sont écartés l'un de l'autre. En *c*, cet écartement s'est encore accentué, et l'allongement de l'ovale de l'endolemme est devenu tel que cet élément n'est plus reconnaissable que comme une ligne un peu courbe, très fine, qui traverse la lumière du tube exolemmaire. Dans la FIG. 41 enfin, qui représente une autre coupe, plus oblique, l'écartement apparent des deux endostyles est devenu tel qu'ils sont situés aux deux pôles de l'axe majeur de l'ellipse formée par le contour de l'exolemme; et le contour intérieur de l'endolemme se montre comme une ligne fine qui les réunit entre eux et simule à s'y méprendre la coupe d'un dissépiment qui partagerait la lumière de l'exolemme en deux cavités égales.

Les FIG. 40, *a*, *b* et *c*, font voir l'effet de la torsion en spirale des divers éléments qui composent le corps d'un zoosperme. En *a*, *upper focus*, l'axe majeur de la coupe de l'endolemme est presque horizontal, et la coupe de l'exospire, *sp.*, se montre à droite. En *b*, *middle focus*, cet axe a subi une

rotation sensible, à droite, et la coupe de l'exospire s'est déplacée dans le même sens suivant un arc de 90 degrés environ. En *c*, *lowest focus*, l'axe de l'endolemme est devenu presque vertical, et en même temps le mouvement de rotation de la coupe de l'exospire a continué et l'a portée à une position située vis-à-vis de sa position primitive.

La FIG. **41** fait voir un nouveau détail, à savoir que, lorsque les coupes sont obliques, elles peuvent intéresser deux tours de spire de l'exospire à la fois, *sp. 1* étant le tour de spire supérieur, en train de monter pour se continuer au-dessus du plan de section, et *sp. 2* la coupe, du côté opposé, du tour de spire suivant, montant d'en dessous.

En somme, le plus ou moins d'obliquité des coupes donne lieu à une grande variété d'images, souvent très intrigantes. Il ne m'a pas paru nécessaire de les dessiner toutes; celles que j'ai données suffisent sans doute à permettre au lecteur de s'y retrouver.

CHAPITRE III.

Le Cou.

La région cervicale, ou cou, n'est autre chose qu'une *articulation* reliant le corps à la tête. C'est une région approximativement cylindrique, longue de 1 micron environ, facilement reconnaissable à son aspect vide, qui fait qu'elle se détache en clair, même sur la cellule vivante. Elle est constituée de la façon suivante.

Le cylindraxe, arrivé au niveau du cou, s'élargit de manière à présenter un renflement en massue, comme le montrent bien toutes les figures. Cette massue se prolonge en avant, au centre, en une petite dent, ou *prolongement odontoïde*, dont la pointe vient se loger dans la cavité cotyloïde de la base de la tête, de la manière qui est représentée dans toutes les figures ayant rapport à la tête. Et des bords de la massue s'élève une fine membrane en collerette, ou *ligament cervical*, qui se porte en avant pour se perdre sur la base de la tête, *b*, *c*, FIG. **19**.

Le prolongement odontoïde peut paraître simplement acuminé, FIG. **16**, ou bien simplement émoussé, FIG. **20**. Mais d'autres fois, il se montre terminé par un petit renflement, lequel peut à son tour paraître effilé en avant en une pointe très fine, FIG. **21**. Il n'y a pas de doute que ce renflement

existe, lorsque l'image microscopique le montre nettement; mais j'ai quelques doutes concernant sa terminaison en pointe, qui pourrait bien n'être qu'un effet optique. Car les parois de la cavité cotyloïde jettent des ombres qui ajoutent beaucoup à la difficulté de l'étude de son contenu.

Le prolongement odontoïde et son renflement terminal, lorsque celui-ci existe, se colorent, dans le spermatozoïde achevé, au même titre que le cylindraxe, dont ils paraissent faire intégralement partie. Il n'y a, d'après mes observations, aucun motif pour admettre que le renflement terminal soit un corpuscule autonome, porté sur le prolongement odontoïde et ne faisant pas corps avec lui.

Le ligament cervical part des bords antérieurs du renflement en massue, comme le montrent les FIG. **16**, **19**, **20**, **21**. Dans les images parfaitement favorables, on constate qu'il se rend, directement, à la base de la tête, FIG. **19**, **21**, sans contracter au passage d'autre adhérence que celle qu'il prend avec la ligne de l'exolemme contre laquelle le cylindraxe se trouve appuyé à ce niveau, le reste de son pourtour étant libre en dedans de la gaîne. Exemple : dans les FIG. **19** et **21**, on voit à gauche une fine ligne un peu arquée passant du cylindraxe à la tête : c'est la coupe optique du ligament cervical soudé à l'exolemme. Mais à droite, dans ces deux figures, on voit une ligne correspondante passant du cylindraxe à la tête *en dedans de l'exolemme*. C'est la coupe optique du ligament cervical là où il est libre, et il l'est parce que, ici, il n'avoisine pas à la paroi de l'exolemme. Car comme on le voit, dans les deux cas, le cylindraxe est couché contre la paroi gauche de l'exolemme.

Dans la FIG. **20**, le zoosperme est orienté de la même manière que dans ces deux figures, et cependant on ne voit qu'un seul contour, à droite, au lieu de deux comme dans les figures précédentes. Ici le ligament cervical est évidemment soudé à l'exolemme à droite aussi bien qu'à gauche. Cela provient, si je ne me trompe, de ce que, par suite du séjour prolongé dans le bleu de méthylène nécessaire pour obtenir l'imprégnation des gouttières intercostales de la tête, une substance probablement liquide, contenue dans la cavité articulaire du cou, s'est gonflée et a distendu le ligament de façon à le mettre en contact avec la paroi de l'exolemme sur tout son pourtour.

Dans la FIG. **16**, l'orientation n'est plus la même, la ligne de contact du cylindraxe avec l'exolemme est tournée presque vers le spectateur, de sorte que la portion libre de l'exolemme ne se montre plus en profil. Ici aussi, nous n'avons qu'une seule ligne passant du cylindraxe à la tête, à

droite comme à gauche, parce que, ici, à droite comme à gauche, le regard plonge également sur la ligne de contact du cylindraxe et de l'exolemme.

La FIG. **37** représente une coupe transversale du cou d'un spermatozoïde presque achevé, c'est-à-dire au stade de la FIG. **23**. C'est une coupe réelle et non une simple coupe optique : la tête a été entièrement éloignée par le rasoir, et l'on a mis au point à la surface de ce qui reste. Le cercle extérieur est évidemment l'exolemme. A l'intérieur de ce cercle, mais excentriquement placé, et collé contre lui sur un arc considérable, se voit un disque pâle, bordé par un contour plus foncé, mais pas noir, et montrant un point central d'un noir intense. Le contour foncé doit être la coupe optique de la membrane cervicale, renforcée par l'image du plateau ou anneau du renflement claviforme, qui n'est pas au point, mais situé au-dessous ; le disque pâle doit être ce plateau lui-même, c'est-à-dire l'anneau vu de face ; le point central noir, sur lequel on a mis au point, n'est autre chose que l'image du prolongement odontoïde, renforcée par celle du reste de l'endostyle, qui est au-dessous. Ces images, dont j'ai rencontré un nombre suffisant, confirment donc la conclusion qu'au niveau du cou, aussi bien que dans le corps, le cylindraxe est excentrique et appliqué par un côté contre l'exolemme ; elles confirment également l'interprétation que j'ai donnée plus haut des lignes longitudinales qui se montrent dans les vues de profil.

Ces explications suffiront, je pense, pour faire comprendre que les images de la région cervicale vue en profil, qui montrent le plus de détails possibles, doivent montrer *quatre* lignes passant du corps vers la tête, à savoir (de droite à gauche, FIG. **19** ou **21**) : 1° le contour de la région libre de la gaîne ; 2° le contour de droite du ligament ; 3° le prolongement odontoïde ; 4° le contour de gauche du ligament, fusionné avec celui de l'exolemme. Et pour donner ces images, il faut que le zoosperme soit orienté exactement de telle sorte que la ligne de contact du cylindraxe avec l'exolemme se profile d'un côté, la paroi libre de l'exolemme de l'autre. Si ces conditions ne sont pas réalisées, on n'aura que trois lignes, comme dans les FIG. **14** à **18**.

En disant que « le ligament cervical part des bords antérieurs du renflement en massue », j'entends seulement décrire ce qui se voit sur le spermatozoïde intègre, et non pas affirmer que ce soit là sa véritable *origine*. Au contraire, il me paraît indiscutable que cette membrane, qui ne semble être qu'une collerette, est en réalité le prolongement d'une fine membrane qui revêt tout le cylindraxe jusqu'au bouchon terminal, c'est-à-dire de l'endolemme du corps du spermatozoïde.

On aura bien compris d'après ce qui précède que l'exolemme enveloppe la région cervicale comme il enveloppe le cylindraxe. En avant, il se perd sur la base de la tête. Je ne puis dire jusqu'à quelle distance il se prolonge sur la tête. Peut-être la recouvre-t-il entièrement, comme paraîtraient l'indiquer le phénomène de l'imprégnation des intercostales et celui des capuchons céphaliques mentionnés plus haut. En tout cas, il ne s'insère pas sur la limite extrême de la base de la tête, mais passe sensiblement plus haut, se profilant sur la tête comme une fibre arquée, FIG. **19**, **20**.

On aura remarqué que les contours du cou sont souvent sensiblement arqués. Je pense que cela est dû à la distension d'une substance contenue dans la cavité cervicale, comme je l'ai expliqué plus haut au sujet de la FIG. **20**.

Il arrive quelquefois que cette substance se colore, les autres éléments de la région cervicale restant incolores, ou moins colorés, et cela tant dans les coupes que dans les colorations de matériel vivant ou frais. On a alors des images qui font l'effet de représenter un anneau coloré, dont la section occupe toute la longueur du cou.

Le cou existe, je crois, toujours comme région anatomique nettement visible dans le spermatozoïde *complétement achevé*. Mais cela n'implique nullement qu'il doit en être ainsi pour les stades antérieurs. Au contraire, on constate sur des spermatozoïdes de l'ovotestis, à un stade où la tête a déjà pris sa forme définitive, qu'il peut ne pas exister de région claire entre le corps et la tête, quoique dans ces cas le cou existe toujours comme articulation. Ainsi, dans les FIG. **25** et **26**, on voit que l'extrémité renflée du cylindraxe est appliquée exactement contre l'ouverture de la cavité cotyloïde, de manière à la boucher exactement, sans laisser d'espace entre ces deux éléments, et que le prolongement odontoïde remplit entièrement la cavité. Dans ces cas, qui sont normaux, on ne voit pas de cou, et le prolongement odontoïde et le renflement en massue, qui peuvent être fortement colorés, se confondent, ou peuvent se confondre, optiquement, avec les bords de la cavité, de sorte que le tout fait l'impression d'un granule coloré, siégeant dans la base de la tête.

La FIG. **23**, qui représente un stade un peu antérieur à celui de la FIG. **25**, est instructive à cet égard. Elle fait voir un spermatozoïde montrant une désarticulation partielle de la tête, provoquée par l'action du rasoir. On y voit que le renflement en massue, qui ici se présente comme un anneau soudé à l'extrémité du cylindraxe, s'est détaché de la tête à gauche, de sorte

que de ce côté-là la cavité cotyloïde est vide; tandis qu'à droite il adhère encore à la base de la tête, et que là le prolongement odontoïde est demeuré appliqué contre la paroi de la cavité et paraît se confondre avec elle.

On comprend facilement en étudiant ces images, qui sont nombreuses, que la longueur de la région claire entre la tête et le corps, et son existence même, dépendent du plus ou moins d'exactitude avec laquelle l'extrémité du cylindraxe vient s'emboîter dans la cavité cotyloïde.

Pour bien observer le ligament cervical, le mieux est de l'étudier sur le vivant à l'aide du rouge Congo, c'est la seule méthode qui m'ait permis de le voir *de face*. De cette manière, on peut constater qu'il est délicatement marbré.

Platner, dans le travail cité plus haut, ne mentionne ni ne figure le cou.

J. Nusbaum (1) l'a brièvement décrit sous le nom de «Mittelstück», d'une façon qui n'est pas parfaitement exacte. Sa figure n'indique ni le ligament cervical, ni la voûte de la cavité cotyloïde, et montre le prolongement odontoïde, d'une longueur fort exagérée, se terminant par une «knopfförmigen Verdickung» de dimensions qui n'existent pas dans la nature. Cette figure me fait l'effet d'avoir été faite d'après un exemplaire fortement estropié par les réactifs.

Chapitre IV.

Comparaisons et Conclusions.

Nous avons vu que la tête consiste en deux parties, l'exosome et l'endosome, le premier enveloppant partiellement le second. Cela n'aura rien d'étrange pour personne, car de semblables parties ou régions ont déjà été décrites pour bien des spermatozoïdes. Je me permets cependant d'appeler l'attention des observateurs sur le fait que j'ai trouvé que l'endosome est pour ainsi dire planté dans l'exosome et en partie recouvert par lui, au lieu de lui être simplement appliqué antérieurement. Je ne cacherai pas que je suis porté à croire que cette disposition se vérifiera pour des cas où elle n'a pas été observée jusqu'à présent.

Nous avons vu que le corps possède une structure beaucoup plus com-

(1) Nusbaum : Anatomischer Anzeiger, Bd XVI, 1899, p. 178.

pliquée qu'on ne l'a cru. Par cela, je pense qu'il se rapproche de la structure des spermatozoïdes filiformes les mieux connus, plutôt que de s'en éloigner.

Que le cylindre axile soit composé de deux fibres, au lieu d'une seule, n'étonnera sans doute personne. On attachera peut-être plus d'importance aux détails de la structure de l'exolemme. J'avoue qu'il ne m'est pas possible de dire si un organe semblable se retrouve communément dans les spermatozoïdes filiformes, ou non. Il me semble maintenant que j'en ai moi-même décrit un tout à fait semblable, mais sans avoir reconnu sa véritable constitution. Car en regardant les dessins et descriptions que j'ai donnés dans le temps (1) des spermatozoïdes de la *Sagitta*, je ne puis réprimer le soupçon que ce que j'ai considéré alors comme une membrane ondulatoire était en réalité une membrane tubulaire, et que les « perles » quadratiques dont je l'ai vue garnie n'étaient autre chose que les coupes optiques des tours d'une exospire.

Des formations tout à fait semblables à l'exolemme ont été décrites par Gilson pour le *Lithobius forficatus* (2) et la *Scolopendra dalmatica* (2). Je pense qu'on doit les considérer comme essentiellement identiques, vu qu'elles montrent les mêmes éléments dans la même disposition, à savoir un tube membraneux et une spirale qui le tapisse. Et je pense qu'on aurait tort de vouloir faire entrer dans la même catégorie une spirale sans tube, ou un tube sans spirale. Car en y réfléchissant, il semble que ces deux éléments doivent également concourir au fonctionnement de l'ensemble. N'est-il pas en effet tout indiqué de penser que par la contraction de la fibre spirale le calibre du tube doit diminuer, et qu'en conséquence (le tube étant fermé aux deux bouts et étant rempli d'un liquide) sa longueur doit augmenter, ce qui entraînerait l'extension du spermatozoïde? L'exolemme serait alors un organe d'extension, jouant le rôle de muscle antagoniste aux endostyles. Il semblerait qu'il doit exister un organe de la sorte, car du moment que les spermatozoïdes sont contractiles, il faut bien qu'ils possèdent le moyen de s'étendre après la contraction. Et l'on ne pourrait pas faire appel pour cela aux propriétés du cytoplasme, car dans le spermatozoïde adulte de l'escargot il n'en existe plus trace.

Je reconnais que je ne sais pas si un exolemme existe ailleurs que dans ces cas. La possession d'une fibre en spirale enroulée autour d'un axe ne

(1) A. Bolles Lee : *La spermatogénèse chez les Chétognathes;* La Cellule, t. IV, 1888, p. 124.

(2) Gilson : *Étude comparée de la spermatogénèse chez les Arthropodes;* La Cellule, t. I, 1884, p. 54, et figure 25, pour le Lithobius; t. II, 1886, p. 322, et figure 801, pour la Scolopendre.

suffirait pas pour constituer un organe de cette sorte. Je me permets de suggérer qu'il serait intéressant de rechercher si, dans les cas où une fibre spirale a été décrite, elle ne serait pas accompagnée d'une gaîne membraneuse à laquelle elle serait adhérente.

Le cou, ou région qui relie la tête au corps, représente une articulation formelle. Il est facile de constater qu'à ce niveau *les têtes se séparent du corps avec une extrême facilité*, et cela tant dans les coupes que dans les préparations de spermatozoïdes vivants étalés sur porte-objet (1). Il ne saurait guère être douteux que le but de cette disposition ne soit de *faciliter la désarticulation de la tête lors de la fécondation*. Si cela est, une disposition semblable doit se retrouver communément chez les spermatozoïdes filiformes. Et en effet on en trouve de nombreuses, décrites le plus souvent par les auteurs sous le nom de « pièce intermédiaire » ou « Mittelstück ».

La notion d'un segment moyen ou « Mittelstück » des spermatozoïdes dérive de Schweigger-Seidel, qui dans un travail classique (2) décrivait la région ainsi dénommée dans les spermatozoïdes des urodèles, des oiseaux et des mammifères.

Cette découverte a fait légende; et depuis lors l'existence d'un « Mittelstück » est devenue pour la plupart des anatomistes un article de foi, non seulement pour les cas où une région semblable est bien marquée et évidente, mais aussi pour les cas où rien de la sorte n'est visible. Il en est résulté que la dénomination de « Mittelstück » a été appliquée aux formations les plus diverses : au « Mittelstück » de Schweigger-Seidel, à la région postérieure de la tête, au cou et au corps. Nusbaum, comme nous l'avons vu plus haut, appelle ainsi le cou des spermatozoïdes de l'escargot, et Benda (3) appelle ainsi leur corps.

Nous allons examiner ces deux points de vue.

Pour se débrouiller au milieu de ce chaos, il conviendra de prendre un « segment moyen » avéré, un de ceux sur lesquels Schweigger-Seidel s'est basé, et en examiner la structure en la comparant à ce que nous avons trouvé chez l'escargot. Je prendrai celui des urodèles, qui est très évident et très connu, je veux dire très connu d'une manière superficielle, car en réalité il a une structure beaucoup plus compliquée que celle que lui prêtent

(1) Ne serait-ce pas un phénomène semblable qui a fait croire à von Bardeleben dans le temps (Verh. d. Anat. Gesellschaft, 1896, p. 38, et ailleurs) que les queues et les têtes se développeraient d'une façon indépendante, pour se réunir par la suite?

(2) Schweigger-Seidel : Arch. f. mikr. Anat., Bd 1, 1865, p. 309.

(3) Benda : Verh. d. physiol. Ges. zu Berlin, 1897-1898, nº 14-17, août 1898.

les auteurs (HERMANN, BALLOWITZ, MEVES, MC GREGOR) dans leurs descriptions.

Les FIG. 43 et 44 font voir le segment moyen ou « Mittelstück » d'un spermatozoïde de *Triton palmatus* tel qu'il se présente après coloration par l'hématoxyline ferrique de HEIDENHAIN et différentiation très soignée dans l'alun de fer (1). La FIG. 43 est une vue de profil, le côté dorsal étant à droite; la FIG. 44 est une vue de face, le côté dorsal étant en haut. On voit que le segment moyen, *M*, FIG. 43, est un tube cylindrique hyalin, d'une dizaine de microns de longueur. Ce tube, du même calibre environ que la tête, *t*, se termine en avant, au niveau *c*, par une face transversale, exactement à angle droit avec l'axe longitudinal. Cette face est formée par un disque troué, ou anneau aplati, du centre duquel surgit une petite dent, ou *prolongement odontoïde*, exactement comme nous avons appris à le connaître pour la terminaison antérieure du corps dans les spermatozoïdes de l'escargot. En arrière, ce tube est au contraire taillé obliquement, ses parois s'incurvent et viennent s'insérer sur un petit anneau elliptique, un peu recourbé en forme de pessaire, fortement sidérophile (les parois du tube ne le sont pas du tout) et placé obliquement par rapport à l'axe du tube. Le cylindraxe ou fibre principale (Hauptfaden) de la queue, *q*, arrivé à ce niveau, s'effile brusquement, de façon à perdre au moins les deux tiers de son épaisseur; ainsi diminué, il se recourbe assez fortement en haut et passe, à l'état de fibre très grêle, à travers l'anneau basal, pour pénétrer à l'intérieur du segment moyen. Là, il se continue, toujours à titre de fibre axile d'abord très grêle, un peu granuleuse, par un trajet un peu sinueux, jusqu'à l'extrémité antérieure du tube. Après avoir parcouru ainsi les trois quarts environ du chemin, cette fibre s'épaissit de nouveau sensiblement, et finalement se renfle en une sorte de massue ou boule allongée qui vient s'insérer dans le trou central du disque terminal, — exactement comme nous avons vu que cela se fait pour l'endostyle primaire du spermatozoïde de l'escargot.

Autour de cette fibre axile serpente en spirale un fil très fin, colorable, comme la fibre axile, par l'hématoxyline ferrique. Ce fil, par sa position, peut rappeler l'exospire du spermatozoïde de l'escargot. Il en diffère cepen-

(1) Le segment moyen contient, outre les éléments figurés que nous allons décrire, une substance de remplissage dans laquelle ils sont enrobés, et qui se colore très facilement par les couleurs basiques, et avec obstination par l'hématoxyline ferrique. Il faut donc pousser fortement la décoloration, beaucoup plus que pour les préparations cytologiques ordinaires, et cependant l'arrêter aussitôt que la couleur aura été enlevée de cette substance de remplissage. Il est avantageux d'employer le procédé de la coloration préventive par le rouge Bordeaux.

dant en ce qu'il est *cylindrique*, et *non pas plat* comme l'exospire; et en ce qu'il ne paraît pas être toujours appliqué exactement contre la paroi du tube. Souvent il la touche, surtout vers le milieu de sa longueur, mais souvent aussi il paraît s'en écarter, et ceci est surtout le cas en avant et en arrière. En avant, je crois que toujours sur une certaine distance il vient s'enlacer étroitement autour de la fibre axile, FIG. **44**. Je n'ai pas pu constater qu'il vient s'insérer sur le disque terminal; il me semble plutôt qu'avant d'y arriver il s'unit à la fibre axile et se confond avec elle. En arrière, il s'effile et devient si grêle que je n'ai pas pu savoir ce qu'il devient; il est possible qu'il y montre une terminaison effilée flottant librement dans l'intérieur du tube. Il est possible aussi que, extrêmement délié, il passe à travers l'anneau basal et se continue sur la queue.

Le segment moyen ou « Mittelstück » ainsi constitué se relie à la tête par l'entremise d'une *articulation* exactement semblable à celle que nous avons trouvée dans le cou du zoosperme de l'escargot. Nous avons vu qu'il présente en avant une surface articulaire formée par le plateau antérieur, ou disque troué, portant en son centre un prolongement odontoïde. Or la base de la tête, FIG. **44**, en haut, est munie d'une cavité cotyloïde destinée à héberger cette face articulaire, exactement comme chez l'escargot. Exactement à cela près que, chez l'escargot, la base de la tête est constituée par une inflexion à angle droit de la paroi de l'exosome, de manière à laisser un rebord sensible autour de la cavité cotyloïde, laquelle n'occupe pas en conséquence toute la base de la tête, *p. e.*, FIG. **26**; tandis que, ici au contraire, l'exosome ne s'infléchit pas, et la cavité occupe toute l'étendue de la base de la tête, sauf l'épaisseur de la paroi de l'exosome. On voit très bien dans ces têtes, au sommet de la grande cavité cotyloïde, la petite cavité secondaire destinée à loger exactement le prolongement odontoïde, FIG. **44**, en haut.

Si cette articulation ressemble par sa structure à celle que nous avons étudiée chez l'escargot, elle le fait également par sa fonction. Car *c'est là que les spermatozoïdes se désarticulent*, et non ailleurs. En effet, il suffit d'examiner une coupe de testicule de triton fixé par le mélange de FLEMMING pour trouver facilement des centaines ou des milliers de têtes séparées du segment moyen au niveau marqué *c*, FIG. **43**, le segment moyen demeurant en place sur la queue, comme le montre la FIG. **44**. Je ne me rappelle pas d'avoir jamais vu au contraire de désarticulation survenue entre le segment moyen et la queue.

Ces faits nous donnent, à ce qu'il me semble, un point de repère certain : *le cou* du spermatozoïde de l'escargot correspond à la région du spermatozoïde du triton marquée *c* dans la FIG. 43, c'est-à-dire *à celle qui se trouve entre la tête et l'extrémité antérieure du segment moyen*. S'ensuit-il que ce qui est immédiatement en arrière de cette région doit avoir la même valeur dans les deux cas, à savoir que ce que j'ai appelé « corps » chez l'escargot serait l'équivalent du segment moyen des urodèles, comme le veut l'opinion de BENDA?

Certaines apparences peuvent paraître plaider en faveur de ce rapprochement. Nous avons chez le triton une fibre axile qui, par toute sa manière d'être, et surtout par son insertion antérieure, se comporte d'une façon essentiellement identique à l'endostyle primaire du spermatozoïde de l'escargot. Autour de cette fibre, nous avons un fil tordu en spirale qui pourrait fort bien représenter l'endostyle accessoire. Et ces deux éléments sont entourés d'une gaîne hyaline (pas cytoplasmique), qui pourrait à la rigueur figurer l'exolemme : il est vrai que je ne lui ai pas trouvé d'exospire, mais ce détail n'aurait peut-être pas d'importance décisive.

Mais d'autre part la base, ou région postérieure, du segment moyen, est faite tout autrement que ne l'est l'extrémité postérieure du corps du spermatozoïde de l'escargot.

Le segment moyen chez les urodèles est muni en arrière d'un anneau qui est elliptique, qui a une position oblique, et qui livre passage à la fibre axile; tandis que l'extrémité postérieure du spermatozoïde de l'escargot est fermée par un bouchon, qui à la vérité a été un anneau pendant un moment de son évolution, mais qui ne l'est plus; qui n'a jamais été ni elliptique ni oblique; et qui surtout est absolument terminal et ne livre passage à aucune fibre ni filament quelconque.

Ces motifs, tirés de la structure du segment moyen seul, me paraissent suffire à faire douter de son identité avec le corps des spermatozoïdes de l'escargot. Il y en aurait peut-être d'autres, tirés de la structure de la queue, qui feraient plutôt admettre que c'est celle-ci qui doit représenter le corps du spermatozoïde de l'escargot. La queue possède évidemment un cylindraxe (fibre axile, *Axenfaden*) et une enveloppe peut-être comparable à l'exolemme. Je n'ai pas pu me rendre compte de la structure, si elle en a une, de cette enveloppe d'après les quelques préparations qui m'ont servi de base aux descriptions du segment moyen que je viens de donner. BENDA (1)

(1) BENDA : *Ueber die Spermatogenese der Vertebraten und höherer Evertebraten*; Verh. d. physiol. Gesellschaft zu Berlin, Jahrg. 1897-98, 11. Aug. 1898.

rapporte avoir trouvé chez le triton « une spirale très fine et très serrée, qui entoure la fibre axile (*Axenfaden*) sur presque toute sa longueur ». Si cela est, la queue des spermatozoïdes des urodèles possèderait non seulement un cylindraxe, mais aussi une exospire, et l'analogie qu'elle offrirait avec le corps de ceux de l'escargot serait à ce qu'il me semble plus étroite que celle que le segment moyen offrirait avec lui.

Je ne voudrais pas trancher cette question, mais j'avoue que pour le moment il me semble plus raisonnable d'admettre que dans les spermatozoïdes de l'escargot *il n'y a rien* qui corresponde au segment moyen de ceux des urodèles. Ce n'est pas le cou, comme le voudrait Nusbaum, car le cou chez l'escargot se trouve représenté par un cou identique chez les urodèles. Il n'y aurait rien à gagner à admettre que ce fût le corps. Car en le faisant, on admettrait que le spermatozoïde de l'escargot se terminerait en arrière par un « segment moyen », ce qui serait vraiment par trop violent; et après avoir pris ce parti héroïque pour lui assurer l'attribution de cette pièce si importante aux yeux de certains, on se verrait obligé de reconnaître qu'il lui manque un corps et une queue, correspondant au « Hauptstück » et à l'« Endstück » de la queue chez les urodèles. De sorte qu'on n'aboutirait qu'à aggraver le manque de correspondance dans les détails de structure de ces deux sortes de spermatozoïdes, au lieu de le supprimer. Pour ma part, je dois dire, sans vouloir le moins du monde manquer de respect au « Mittelstück », que je ne vois point pourquoi cette pièce ne ferait pas défaut dans un spermatozoïde quelconque, tout aussi bien que le « Hauptstück », ou l'« Endstück », ou la membrane ondulatoire de la queue.

On me dira peut-être que, d'après une opinion très répandue, le premier fuseau de segmentation après la fécondation est formé aux dépens d'un « centrosome » ou « corpuscule central », que ce corpuscule est fourni par le spermatozoïde, et que d'après les observations de beaucoup d'auteurs il serait logé dans le « Mittelstück »; et qu'en conséquence il faut qu'il y ait un « Mittelstück » pour le loger. Je ne puis que répondre que je doute très fortement de l'exactitude de ces prétendues observations de « corpuscules centraux », tant à l'égard de l'existence actuelle de ces corpuscules dans le « Mittelstück » ou autre région du spermatozoïde, qu'à l'égard du rôle qu'on leur prête de formateurs du fuseau. En tout cas, il est évident d'après ce qui précède que, pour les urodèles comme pour l'escargot, ni le cou ni le « Mittelstück » n'en montrent trace. Ce qu'ils montrent, ce sont *des insertions d'endostyles;* mais aucun corpuscule autonome d'aucune sorte. Que des

images vagues de ces insertions, ou des colorations du cou imparfaitement localisées, puissent simuler des « corpuscules », je le sais par expérience. Mais je n'admets pas qu'il y ait un motif quelconque pour supposer que, du moins dans les cas qui nous occupent, de pareils « corpuscules » existent en réalité.

En résumé, les conclusions principales auxquelles les faits que j'ai décrits me paraissent devoir conduire sont les suivantes.

1. Le spermatozoïde de l'escargot est composé de trois régions : une tête, un cou et un corps.

2. La tête est composée de deux parties, l'exosome et l'endosome. Le premier enveloppe partiellement le second, et contient toute la nucléine.

3. Le corps est composé de deux organes, un cylindre axile et une membrane tubulaire qui l'entoure, l'exolemme. La fibre spirale de PLATNER est une illusion.

4. Le cylindre axile n'est pas une fibre simple, comme on l'a cru, mais est composé de deux fibres entortillées et enrobées dans une substance granuleuse, le tout étant revêtu d'une membrane anhiste, l'endolemme.

5. L'exolemme n'est pas de nature cytoplasmique, mais est formé par une membrane anhiste garnie en dedans d'un ruban en spirale.

6. Le cou est la région qui relie la tête au corps. Il constitue une articulation formelle, la tête saillante de l'extrémité du corps s'articulant par énarthrose avec une cavité cotyloïde pratiquée dans la base de la tête. Il a pour but vraisemblablement de faciliter la désarticulation de la tête lors de la fécondation.

7. Il n'existe, ni dans le cou ni ailleurs, aucun « centrosome » ou « corpuscule central ».

8. Le spermatozoïde achevé ne contient plus aucune trace de cytoplasme (si ce n'est quelques restes de membrane cellulaire), mais est entièrement histologiquement différencié dans toutes ses parties.

9. Il ne contient pas de segment moyen, soit « Mittelstück » de SCHWEIGGER-SEIDEL, ni rien, apparemment, qui en soit l'analogue.

10. Le segment moyen, soit « Mittelstück », des spermatozoïdes des urodèles est un cylindre membraneux contenant une fibre axile, une fibre en spirale qui l'entoure, et une substance qui les enrobe.

11. Les spermatozoïdes des urodèles présentent, en avant du segment moyen, un cou constitué exactement comme celui des spermatozoïdes de l'escargot.

12. Il n'existe, ni dans le segment moyen ni dans le cou des spermatozoïdes des urodèles, aucun »centrosome« ou »corpuscule central«.

13. Tant pour les urodèles que pour les escargots, des insertions de fibres axiles ou des colorations imparfaitement localisées peuvent simuler des corpuscules autonomes dans la région du cou.

EXPLICATION DES FIGURES.

FIG. **1**. Portion antérieure d'un spermatozoïde vivant. × 500. État de contraction moyenne.

FIG. **2**. Portion antérieure d'un spermatozoïde vivant. × 750. Corps moins contracté.

FIG. **3**. Portion antérieure d'un spermatozoïde vivant. Copie d'après PLATNER.

FIG. **4**. Portion du corps d'un spermatozoïde adulte, près de la tête. × 3000. Vert de méthyle, liqueur de RIPART et PETIT.

FIG. **5**. Deux études de portions du corps, après séjour de 24 heures dans de la lymphe additionnée de bleu de méthylène. × 1500.

FIG. **6**. Portion du corps d'un spermatozoïde non achevé, prise près de la tête. × 3000. Formol picrique de BOUIN, paraffine, hématoxyline ferrique, Säurefuchsin. Pour montrer l'exolemme, *exol.*, l'exospire, *exosp.*, et l'endostyle, *endost.* En *a*, *a*, soulèvement d'une membrane (membrane cellulaire?); en *b*, *b*, dédoublement de l'exospire.

FIG. **7**. Portion de spermatozoïde au même stade que FIG. **6**, commençant à une distance de 10 microns de la tête. × 3000. Même mode de préparation que FIG. **6**. Il y a deux endostyles, comme on le voit au haut de la figure. Le dédoublement de l'exospire a donné lieu à la formation de deux rubans parallèles en bas, divergents en haut.

FIG. **8**. Extrémité postérieure d'un spermatozoïde vivant. × 1500.

FIG. **9**. Portion postérieure d'un spermatozoïde vivant. × 3000. On voit le bouchon terminal, mais l'exolemme n'est pas visible.

FIG. **10**. Portion postérieure d'un spermatozoïde après macération dans de la lymphe additionnée de rouge Congo. × 3000. Exolemme visible jusqu'au bouchon terminal.

FIG. **11**. Autre étude d'un objet semblable. × 3000.

FIG. **12**. Trois études du bouchon terminal de spermatozoïdes vivants dans de la lymphe additionnée de rouge Congo. × 3000. Le bouchon porte un globule fortement coloré.

FIG. **13**. Extrémité postérieure d'un spermatozoïde non achevé, au stade de la FIG. **6**. × 3000 Même mode de préparation que FIG. **6**. On voit le bouton caudal en godet, dont le cil est tombé, l'exolemme et l'endostyle s'y insérant, de même l'exospire. *m*, membrane cellulaire soulevée.

FIG. **14**. Tête et partie du corps d'un spermatozoïde achevé, vivant. × 1500. *ex.*, exolemme; *cyl.*, cylindre axile. La mise au point est sur la surface supérieure de la tête.

FIG. **15**. Objet semblable, après séjour d'un jour dans de la lymphe additionnée de bleu de méthylène. × 1500. Mise au point sur la surface supérieure de la tête.

FIG. **16**. Objet semblable, vivant. × 3000. Vue de face de la région cervicale. Mise au point sur la surface supérieure de la tête.

FIG. **17**. Objet semblable, vivant. × 1500. La mise au point plus bas que dans les figures précédentes, pour montrer le dessin losangé produit par les côtes montant à la surface inférieure de la tête.

FIG. **18** Objet semblable, dans de la lymphe additionnée de rouge Congo. × 1500. Mise au point comme pour la figure précédente.

FIG. **19**. Objet semblable, vivant. × 3000. Mise au point comme pour la figure précédente. Vue de profil du cou, montrant le ligament cervical, le prolongement odontoïde du cylindre axile, et l'exolemme.

FIG. **20**. Objet semblable, vivant, dans de la lymphe additionnée de bleu de méthylène. × 3000. Pour montrer les gouttières entre les côtes en spirale, imprégnées par le bleu de méthylène.

FIG. **21**. Base de la tête, cou, et partie du corps d'un spermatozoïde, après séjour de 24 heures dans de la lymphe additionnée de rouge Congo. × 3000. Vue de profil du cou; prolongement odontoïde visible dans toute sa longueur, se terminant en pointe dans la cavité cotyloïde de la tête. Exospire visible sur le corps.

FIG. **22**. Tête détachée, désarticulée. × 1500. Liquide de FLEMMING, hématoxyline ferrique, baume. Pour montrer la cavité cotyloïde, profonde de 1,5 micron.

FIG. **23**. Tête à moitié désarticulée. × 3000. Même préparation que la figure précédente.

FIG. **24**. Tête désarticulée. × 1500. Même préparation que la figure précédente.

FIG. **25**. Tête et portion du corps. × 1500. Spermatozoïde non entièrement achevé, cylindre axile s'articulant exactement avec la cavité cotyloïde, de sorte qu'il n'y a pas de cou manifeste. Même préparation que la figure précédente.

FIG. **26**. Même objet. × 3000.

FIG. **27**. Vertex d'une tête, spermatozoïde vivant. × 1500. Forme en crochet.

FIG. **28**. Trois études de vertex, sur le vivant. × 3000. Forme droite.

FIG. **29**. Coupe transversale d'une tête. × 3000. Acide picro-osmique de VOM RATH, paraffine, Kernschwarz, safranine. Voyez le texte.

FIG. **30**. Tête et partie du corps d'un spermatozoïde non complétement achevé. × 1500. Formol picrique de BOUIN, paraffine, hématoxyline ferrique, Säurefuchsin. Le vertex de la tête, muni d'un filament procéphalique formel, est invaginé dans l'exosome. Endostyles et exospire tout juste visibles, ce qui est l'aspect normal après ce genre de préparation.

FIG. **31**. Même objet. × 3000.

FIG. **32**. Objet semblable, même stade. × 3000. Même mode de préparation que la figure précédente. *Cyl.*, le cylindre axile, le trait est sur l'endolemme. Le corps un peu gonflé, de sorte que les deux endostyles et l'exolemme avec l'exospire sont bien évidents. La tête vue en raccourci.

FIG. **33**. A gauche, renflement antérieur d'un cylindre axile, même colonie que la figure précédente. × 3000. Pour montrer que l'un et l'autre des endostyles s'insèrent sur un bouton globulaire en dessous de l'anneau cervical, qui n'est pas visible. *Endol.*, l'endolemme; *ex.*, l'exolemme. A droite, coupe transversale d'un corps à un niveau plus bas que la figure précédente, même colonie. × 3000. *a*, *a*, l'exospire en coupe; *b*, les deux endostyles, un peu couchés dans le plan de la préparation; *c*, l'exolemme.

FIG. **34**. Portion antérieure d'un corps, même colonie que celui de la FIG. **32**. × 3000. Ce corps est moins dilaté que celui de la FIG. **32**. L'anneau cervical qui termine le renflement antérieur du cylindre axile est bien visible. Exospire fine.

FIG. **35**. Objet semblable, même colonie. × 3000. Exolemme très boursouflé, exospire puissante.

FIG. **36**. Objet semblable, même genre de préparation, autre sujet. × 3000. Mêmes détails, mais le tout moins gonflé. Dans ces sept dernières figures, le prolongement odontoïde n'est pas visible.

FIG. **37**. Coupe transversale au niveau du cou. En *a*, × 1500, en *b*, × 3000. Voyez la description dans le texte, p. 102. Même préparation que la FIG. **30**.

FIG. **38**. Coupes transversales du corps, à des niveaux successifs de 7,5 microns à partir de la tête. Même mode de préparation. × 6000. Voyez la description dans le texte, p. 97.

FIG. **39**. Coupe oblique d'un corps. × 3000. Même mode de préparation. L'exospire est visible en bas à droite.

FIG. **40** Trois coupes, à trois mises au point, d'un corps. × 6000. La coupe est presque transversale. Pour montrer l'origine de la ligne diamétrale qui joint les deux endostyles dans la figure suivante. *sp*, l'exospire. Voyez la description dans le texte, p. 99.

FIG. **41**. Coupe oblique d'un corps. × 6000. Montre la ligne diamétrale, et fait voir qu'une coupe oblique peut intéresser deux tours de l'exospire à la fois. *sp.* 1, *sp.* 2, l'exospire.

FIG. **42**. Coupe transversale d'un corps à 2 ou 3 microns au-dessous de la tête. × 6000. La coupe est transversale et le corps placé verticalement dans la préparation, mais le dessin a été fait à deux mises au point. Montre un tour d'exospire selon sa longueur en haut à gauche, et en coupe en bas, contre le cylindre axile.

FIG. **43**. Région du segment moyen, soit « Mittelstück », d'un spermatozoïde de *Triton palmatus*. × 3000. *t.*, tête; *c.*, cou; *M.*, segment moyen; *q.*, queue. Voyez la description dans le texte, p. 107. Fixation par le chlorure d'iridium, paraffine, Bordeaux R, hématoxyline ferrique.

FIG. **44**. Objet semblable, la tête naturellement désarticulée. × 3000. On voit la cavité cotyloïde de la tête et le prolongement odontoïde du cylindre axile. Voyez la description dans le texte. Même préparation que la figure précédente.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction 79

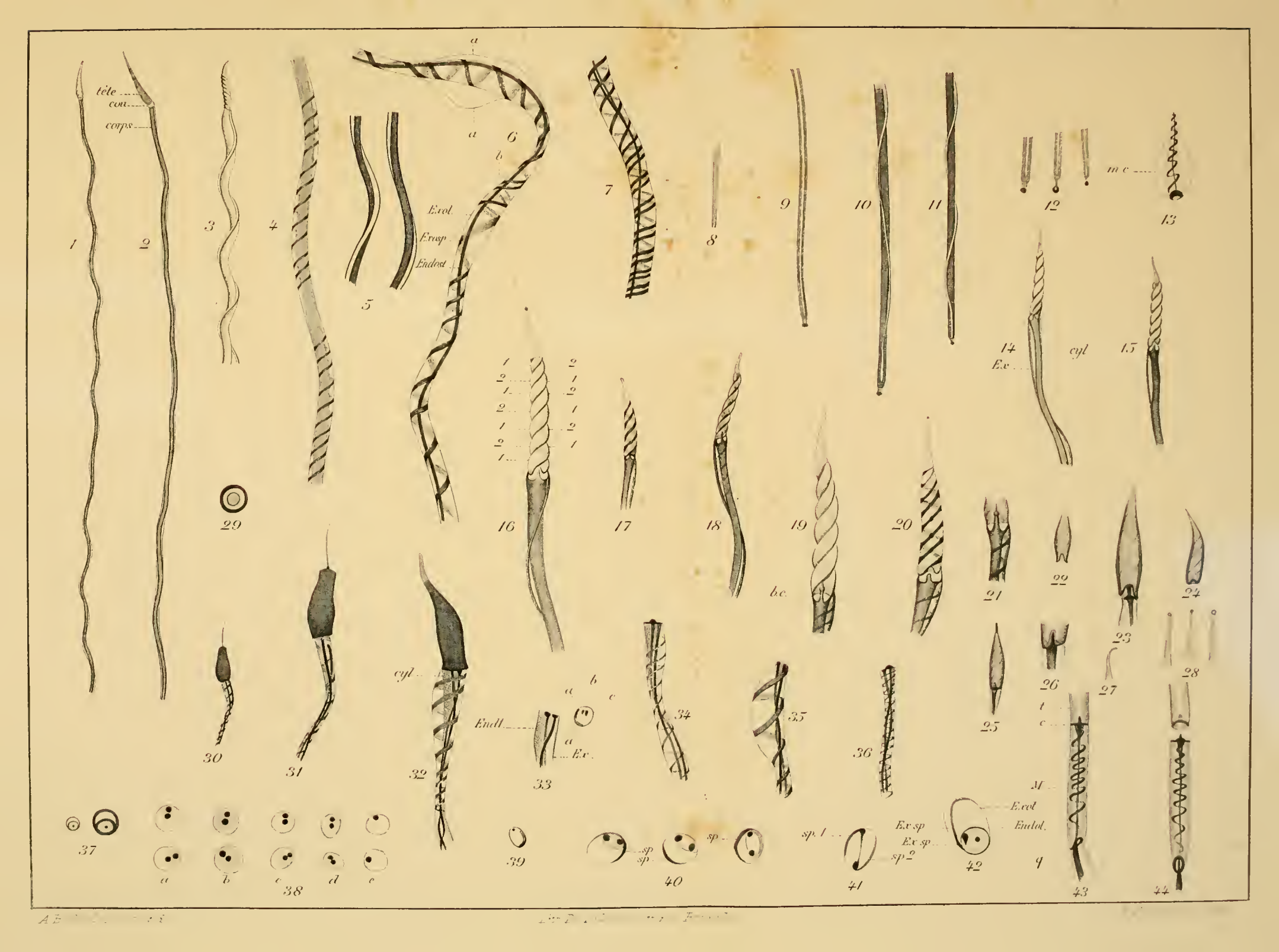
Chapitre I. *La tête* 81

Chapitre II. *Le corps* 88

Chapitre III. *Le cou* 100

Chapitre IV. *Comparaisons et conclusions* 104

Explication des figures 113


tête
cou
corps
Exol.
Exosp
Endost
cyl
Ex.
m c
b.c.
Endll
Ex.
sp
sp
sp 1
sp 2
Ex sp
Ex sp
Exol
Endol.
M
t
c
q

Étude sur les Histones

PAR

Fernand MALENGREAU
DOCTEUR EN MÉDECINE

(Travail du Laboratoire de Chimie biologique de l'Institut Carnoy.)

(*Mémoire déposé le* 15 *juillet* 1903.)

Étude sur les Histones

INTRODUCTION.

Il nous semble utile, avant de faire connaître le plan du travail actuel, de retracer à grands traits les notions que les travaux récents ont apportées dans le domaine des nucléoprotéides du thymus.

Dans l'extrait aqueux du thymus, on trouve bien certainement deux nucléoprotéides distincts, séparables même par des méthodes diverses. La séparation la plus nette est celle que nous avions adoptée dès notre premier travail : le sulfate ammonique à demi-saturation *précipite* une première substance que nous avions nommée nucléoalbumine A, que d'autres nommèrent nucléoprotéide; la même concentration de ce sel laisse en *solution* notre nucléoalbumine B, nommée nucléohistone par Huiskamp.

En outre de ces deux nucléoprotéides, nous avions prétendu retirer *deux histones* respectives, et des acides nucléiniques livrant les mêmes bases nucléiniques et présentant les mêmes caractères généraux. La possibilité de retirer de l'histone de la nucléoalbumine A, appelée pour cette raison nucléoprotéide, fut méconnue par Bang et contestée par Huiskamp; dans un second travail sur ce point, nous croyons avoir rendu le phénomène incontestable et avoir même indiqué les causes des insuccès de nos contradicteurs (*).

(*) Nous recevons le 13 juillet un mémoire de Huiskamp devant paraître dans le « Zeitschrift für physiol. Chemie », B. 39, dans lequel nous constatons avec plaisir que Huiskamp est parvenu à retirer l'histone de la nucléoalbumine A. Il nomme cette dernière β-nucléohistone et dit p. 58 : « Sowohl aus α- wie aus β-nucleohistone lässt sich mittelst verdünnter Salzsaure in reichlicher Menge Histon bereiten. »

En même temps, il appert des résultats de la méthode employée par Bang pour scinder les composants de la nucléoalbumine B, qu'on peut retirer de cette dernière *tout le radical protéique* sous forme d'histone. Finalement, nous avons constaté dès notre premier mémoire la coïncidence remarquable que les histones A et B et leurs composants, les nucléoalbumines A et B, ont la même précipitabilité respective par les sels neutres.

L'ensemble de ces données tendent à simplifier notablement la conception générale qu'on se faisait encore il y a cinq ans des nucléoprotéides. Nous ne pouvons mieux faire à cet égard que de citer ce qu'écrivent Osborne et Harris à la date du 28 juin 1902, dans la revue même de Kossel :

« Da die Nucleinsäuren zweifellos eine besondere Klasse von Phosphorsäureestern vorstellen, die sich leicht mit Eiweisskörpern zu künstlichen Verbindungen vereinigen, die den in den Geweben gefundenen ähnlich, wenn nicht gleich sind, so halten wir es für wichtig, die Bezeichnung « phosphorhaltige Proteide » zu verlassen, die diesen Verbindungen mit Nucleinsäuren beigelegt worden ist, und besser ihren wirklichen Charakter zu berücksichtigen. Da die Eiweisskörper sich jetzt als basische Substanzen erwiesen haben, so können sie zweifellos wirkliche Salze mit Nucleinsäuren bilden.

« Wir haben schon erwähnt, dass es nucleinsaures Eiweiss gibt, das Globulin oder Albumin ähnlich ist, indem der Charakter des Salzes durch die Natur der Eiweisscomponente bestimmt wird und das Globulin Salze mit ausgesprochenem Globulincharakter, das Albumin solche mit Albumincharakter bildet. In dieser Beziehung verhalten sich die Nucleinsäuren wie andere Säuren, die in kleinen Mengen mit Eiweisskörpern Verbindungen eingehen.

« Ob alle die vielen Nucleoproteide, die aus den verschiedensten Zellen und Geweben erhalten worden sind, nucleinsaures Eiweiss sind, kann natürlich ohne besondere Untersuchung der einzelnen Substanzen nicht entschieden werden, aber es ist durchaus nicht unwahrscheinlich, dass es so ist, und es ist sehr wohl möglich, dass die Nucleinsäure in der Zelle in salzähnlicher Bindung vorkommt. Der Mangel an Uebereinstimmung in der Zusammensetzung der vielen Präparate, die von den verschiedenen Untersuchern erhalten worden sind, besonders die grossen Schwankungen in Phosphorgehalt, weisen deutlich auf solchen Zusammenhang hin.

« Die Eiweissverbindungen der Nucleinsäure können als nucleinsaures

« Eiweiss betrachtet werden, und zwar bilden diejenigen, die wenig Nu-
« cleinsäure mit viel Eiweiss enthalten, die Nucleoproteide, diejenigen,
« die viel Säure und wenig Eiweiss enthalten, die Nucleine. Das Verhält-
« niss in dem Eiweiss und Nucleinsäure in Bindung treten, wird durch die
« relative Menge von Basen und Säuren bestimmt, die zu einer bestimm-
« ten Zeit in der Lösung vorhanden sind. » (*)

Nous n'aurions pas osé nous montrer aussi catégorique malgré le courant qui semble entraîner les esprits de tous les expérimentateurs récents vers cette conception nouvelle des substances nucléiniques. Nous devons cependant reconnaître que cette hypothèse semble avoir atteint un degré de probabilité auquel n'étaient point parvenues les théories anciennes. Remarquons qu'elle simplifie notablement les idées qui ont régné jusqu'à présent et qui tendaient à faire des nucléoalbumines un groupe d'un ordre tout spécial. C'est là un énorme progrès dû aux recherches qui ont été faites dans ces dernières années à travers ce labyrinthe des substances nucléiniques, recherches auxquelles nous sommes heureux d'avoir collaboré.

Des deux grands produits de dissociation de la nucléine, l'histone particulièrement nous a paru intéressante à étudier. La propriété qu'elle possède de déterminer une combinaison avec les albuminoïdes n'est peut-être que l'accentuation d'une propriété générale des protéides. Cette synthèse semble se retrouver également dans un domaine plein d'un intérêt pratique. Nous ne pouvons, en effet, nous empêcher d'établir une certaine analogie entre ces combinaisons de protéide à protéide et celles que nous voyons survenir dans d'autres conditions entre une substance albuminoïde et son anticorps.

Nous aurions voulu davantage pénétrer dans ce domaine de l'immunité et collaborer à ce problème en déterminant les anticorps de nos nucléines et de nos histones. Nous n'avons pu réaliser notre programme malgré des efforts de plusieurs mois, dont les résultats ont été résumés en ces quelques lignes du Professeur Ide dans les *Fortschritte der Medicin*, N. 25, 1902 :
« Endlich war es unserem Schüler Malengreau unmöglich, selbst durch
« neun hohe Dosen einen Antikörper zu bekommen gegen die Thymus-
« nucleine des Kalbes. »

A de nombreuses reprises différentes, nous avons recherché cette immunité contre nos nucléines et nos histones par des injections intravascu-

(*) Osborne und Harris : *Die Nucleinsaure des Weizenembryos;* Zeitschrift für physiologische Chemie, 1902, Bd XXXVI, p. 85.

laires ou sous-cutanées. Nos recherches furent stériles, du moins au point de vue auquel nous nous placions. Nous avons dirigé alors tous nos efforts vers la connaissance de ces histones, et particulièrement vers cette propriété toute spéciale qui nous les faisait comparer à ces anticorps par leur combinaison avec les albuminoïdes. Ce fut le point de départ de ce troisième mémoire que nous publions aujourd'hui.

HISTORIQUE.

Nous ne voyons signalée nulle part dans les premiers travaux parus sur les nucléines et les histones la propriété que possèdent ces dernières de déterminer une précipitation avec les solutions d'albumines. Il nous faut remonter jusqu'au travail de Bang paru en 1899, sous le titre *Studien über Histon*, pour l'y voir mentionnée.

Remarquons en passant que Lilienfeld (*) en 1895 croyait avoir reconnu aux nucléoalbumines la propriété de provoquer la coagulation sanguine par formation de fibrine dans certaines conditions. Il scindait la nucléohistone en deux produits, dont l'un, l'histone, avait une action inhibitive, l'autre, la leuconucléine, une action efficiente sur la coagulation. Il ne reste malheureusement rien de ces vues très personnelles de Lilienfeld; nous ne les rappelons que pour montrer que cet auteur fut loin de soupçonner les synthèses formées par l'histone.

C'est à Bang (**) que revient le mérite de l'avoir signalé en termes précis. Une partie de son travail de 1899 relate sa découverte. Sous le titre de « Das Verhältniss zu Eiweisslösungen », il écrit :

« Das Verhältniss zu Eiweisslösungen ist die andere neue Eigenschaft « der « *Histongruppe* » die ich gefunden habe.

« Setzt man zum Blutserum eine neutrale Histonlösung, so bekommt « man einen reichlichen Niederschlag. Dasselbe tritt sowohl bei Gänseblut- « und Thymushiston, als auch bei Scombron und Globin ein. Alle diese « Substanzen besitzen also eine *eiweissfällende Eigenschaft*. Da nun aber « Blutserum viele verschiedene Substanzen enthält, habe ich es vorgezogen, « diese Eigenschaft der Histongruppe an reinen Eiweissgruppen zu studi-

(*) Lilienfeld : *Ueber Leucocyten und Blutgerinnung*; Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin, 1902.

(**) Bang : *Studien über Histon*; Zeitschr. f. phys. Chemie, 1899, Bd XXVII, p. 463.

« ren. Von solchen habe ich benutzt : Lösungen von Ovalbumin (0,8 %), « von Serumglobulin (0,5 %) und von Casein (0,6 %, Casein mit neutraler « Reaction). Die Lösungen der Histone, des Scombrons und des Globins « waren 1 % ig.

« Setzte ich nun zu einer solchen Eiweisslösung die Lösung des His- « tons u. s. w., so bekam ich einen der Histonmenge entsprechenden grös- « seren oder geringeren Niederschlag. Diese Fällung, welche bei neutraler « Reaction eintrat, war unter Umständen beinahe *quantitativ* und zwar so, « dass ein Theil Histon ca zwei Theile Casein und Serumglobulin, aber nur « ca einen Theil Ovalbumin niederschlug. Dieser Niederschlag war sehr « leicht in Säuren löslich und kam wieder bei Neutralisation der Lösung. « Der Niederschlag war auch in Alkalien (ca 0,2 % NaOH genügt) und Am- « moniak löslich. *Diese ammoniakalische Lösung gab nun mit Salmiak « keine Fällung*, wenn ein kleiner Ueberschuss von Eiweiss da war. Die « Histone selbst sind aber in Ammoniak und Salmiak, wie vorher gezeigt « worden ist, vollkommen unlöslich. Das Scombron und Globin verhalten « sich in dieser Beziehung ganz ähnlich wie die Histone. *Also das Scom- « bron, welches selbst in Ammoniak unlöslich ist, giebt mit einer Eiweiss- « lösung einen Niederschlag, welcher in Ammoniak ganz leicht löslich ist.* »

Comme on le voit, Bang, après avoir signalé le fait, se contente de le vérifier pour d'autres histones et de donner quelques chiffres approximatifs concernant le dosage des combinaisons formées.

Examinons de près où en est la question de ces combinaisons.

a) *Qualitativement.*

Comme nous le verrons dans le cours de notre travail, la question de la nature même du précipité que forment les solutions d'histones avec les solutions d'albuminoïdes exige une étude plus attentive et plus approfondie. La solubilité dans NH_3 semble *a priori* un fait capital qui plaide en faveur de la formation de l'albuminate d'histone. Mais l'argumentation présente un point faible. L'insolubilité dans NH_3, qui constitue un des caractères principaux de l'histone, n'est pas une propriété absolument constante, en ce sens que certaines conditions peuvent la modifier et même la cacher complétement.

Nous avons déjà signalé le fait que la présence d'une faible quantité de sels ammoniacaux supprime l'insolubilité des histones dans NH_3 (*).

(*) *Sur les nucléines* etc.; La Cellule, t. 19, f. 2, p. 304.

La perte de cette propriété ne peut donc à notre avis constituer qu'une présomption, mais non une certitude, comme Bang semble le croire.

b) *Quantitativement.*

Bang déjà semble vouloir déterminer les rapports de proportion qui existent entre les quantités d'histone et d'albuminoïde qui interviennent comme facteurs dans la combinaison : « Diese Fällung welche bei neutraler « Reaction eintrat, war unter Umständen beinahe quantitativ und zwar so, « dass ein Theil Histon ca zwei Theile Casein und Serumglobulin, aber nur « ca einen Theil Ovalbumin niederschlug. » Bang a-t-il renoncé à une analyse plus exacte par suite des difficultés accumulées sur sa route? Son intention n'était-elle que de donner un rapport déterminé à vue d'œil, sans vouloir pénétrer plus avant dans la question? Peu nous importe. Mais nous sommes en droit d'élever quelques doutes sur une analyse aussi sobre de détails et que l'auteur lui-même avoue n'être qu'approximative (circa).

N'oublions pas d'ailleurs qu'au moment où écrivait Bang, la séparation des substances albuminoïdes par la méthode d'Hofmeister était loin d'avoir la généralisation qu'elle a acquise aujourd'hui. Les albuminoïdes du sérum sanguin étaient moins bien isolés. Les nucléoalbumines elles-mêmes n'avaient pas été divisées dans les deux espèces bien admises actuellement (nucléoalbumine A et B pour nous, nucléoprotéide et nucléohistone pour Bang et Huiskamp). Les produits de dissociation de ces nucléoalbumines, c'est-à-dire les histones, ont à leur tour été englobés dans ce travail d'analyse et de classification et nous avons mis hors de doute l'existence de deux histones très différentes dans le thymus.

Le champ expérimental s'est donc considérablement accru et a gagné une précision beaucoup plus grande.

Si donc d'une part l'existence réelle d'une synthèse est susceptible de sérieuses objections et demande à être établie sur des bases plus solides, d'un autre côté les dosages eux-mêmes sont à recommencer avec les données nouvelles que nous possédons actuellement. Non seulement nous ne pouvons nous contenter des rapports approximatifs qui unissent les histones en général aux albuminoïdes, mais nous devons étudier chacune des histones dans ses rapports avec les différents albuminoïdes.

Bang a tracé une voie intéressante à explorer. Mais tout le travail de précision et de certitude reste à faire.

PLAN DU MÉMOIRE.

Il arrive souvent que celui qui s'attaque à un champ d'études aussi neuves s'engage plein de confiance dans la voie ébauchée par un prédécesseur, sans soupçonner les difficultés de tout genre, les déboires, les insuccès, qui viennent ébranler la volonté la plus tenace et semer le doute dans les esprits.

Nos premiers pas dans la voie que nous nous étions tracée ont été pénibles. Les premiers dosages nous ont donné des résultats décourageants par leur discordance fantaisiste. Force nous a été de retourner en arrière, d'étudier point par point les précipités que nous voulions doser.

Ce travail fut des plus longs. La préparation seule de nos matériaux indispensables, j'entends nos histones purifiées et bien séparées, ont exigé chaque fois un mois de besognes patientes pour n'obtenir que des quantités relativement minimes de substances.

Mais le projet était trop tentant pour ne pas persister dans la voie si large que nos propres recherches antérieures nous entr'ouvraient.

Posséder deux histones bien distinctes, appartenant, d'après leur solubilité dans les solutions de Am_2SO_4, l'une au groupe homologue des globulines, l'autre à celui des sérines, ou, si l'on préfère, rangées l'une parmi les protalbumoses, l'autre parmi les deutéroalbumoses; tenter la combinaison de *chacune* de ces deux histones avec des albuminoïdes tantôt du groupe homologue, tantôt du groupe hétérogène; voir comment vont se comporter ces produits de synthèse; espérer enfin que les dosages de l'azote de ces nouveaux protéides seront une source précieuse de renseignements concernant la grandeur proportionnelle des molécules qui se combinent : toutes ces considérations étaient plus que suffisantes pour ranimer notre courage un peu fléchissant.

Le travail achevé, nous ne pouvons faire suivre au lecteur les voies irrégulières que nos recherches ont parcourues.

Nous avons divisé notre mémoire en trois chapitres.

Dans le premier, nous devons faire connaître une modification surprenante que subit l'un de nos éléments de synthèse : l'histone B est susceptible de se transformer sous certaines influences en une modification stable que nous appellerons histone B modifiée (B mod.). Surprenante modification, disons-nous, car elle a échappé à Bang comme à nous-même et elle

survient, contre toute attente, sans précédent de modification analogue, dans l'histoire des protéides.

Dans un second chapitre, nous commençons l'étude des synthèses. Nous verrons successivement les preuves qui confirment cette synthèse, les propriétés qualitatives de ses produits et les conditions nécessaires à sa formation.

Enfin, dans un troisième chapitre, nous abordons l'analyse de quelques combinaisons pour connaître les relations quantitatives des deux facteurs. Les difficultés se sont ici accumulées sans nombre. Une à une, nous examinerons toutes les causes d'erreur qui ont barré la route, en indiquant du même coup les moyens employés pour les écarter. Nous n'avons voulu donner d'autres résultats que ceux dont nous pouvions garantir l'exactitude et la constance.

Maintenant que nous avons pu réaliser en grande partie notre programme, nous sommes heureux d'avoir persisté dans nos travaux et nous trouvons dans les résultats obtenus une juste compensation à nos efforts.

Chapitre I.

Modification de l'histone B.

Après toutes ces considérations générales énoncées pour bien déterminer la mise au point de la question, nous arrivons à l'objet même de nos recherches.

Déjà dans notre second mémoire, nous avons signalé la méthode nouvelle inaugurée par Bang pour l'extraction de la seconde histone : l'action de NaCl à saturation sur une solution de nucléoalbumine B détermine un précipité qui n'est autre que l'histone elle-même. L'acide nucléinique reste dans le filtrat, et c'est ce qui a fait dire à Bang que la nucléoalbumine n'est en somme qu'un nucléinate d'histone.

Nous ne nous sommes pas occupé davantage alors de cette méthode ni de ses résultats. Il ne s'agissait que de deux méthodes différentes pour extraire l'histone d'une même nucléoalbumine B : rien ne nous laissait prévoir qu'il existât entre les deux produits d'extraction d'autre différence que le chemin qu'on leur avait fait suivre.

Depuis lors, nous avons souvent employé le procédé de Bang pour isoler l'histone B, procédé tout à la fois le plus simple et le plus productif.

Grand a été notre étonnement en constatant un jour pour la première fois que l'histone ainsi obtenue présentait vis-à-vis de la solution de Am_2SO_4 une solubilité différente de l'ancienne histone B (*). La limite inférieure d'insolubilité dans Am_2SO_4 qui, dans notre histone préparée par HCl, avoisinait 55 % de saturation, était descendue à 33 % et sa limite supérieure à 48 %. Les tableaux comparatifs qui suivent montrent nettement la différence.

(*) Nous avons à relever à ce sujet une phrase incorrecte de notre précédent mémoire. P. 298, ligne 12, les mots « ou par le NaCl à saturation, méthode préconisée par Bang » devraient être supprimés. Nous croyions fermement alors que les deux histones B, quel que soit leur mode de préparation, étaient solubles à la demi saturation de Am_2SO_4. Notre attention a été surprise; tout occupé que nous étions alors à prouver l'existence réelle de l'histone A, nous n'avions pas fait la vérification de ce détail de l'histone B.

TABLEAU I.

Limites de précipitation de l'histone B (préparée par HCl 2 °/oo).

Solution d'histone	Solution saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentration °/o	Résultat
3 cm³	4,5 cm³	2,5 cm³	45 °/o	0
3	5,0	2	50	0
3	5,3	1,7	53	Opalescence
3	5,5	1,5	55	Précipité
3	6	1	60	Dépôt abondant

TABLEAU II.

Limites de précipitation de l'histone B mod. (préparée par NaCl *à saturation*).

Solution de l'histone B mod.	Solution saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentrat. °/o	Résultat	Filtrat + Am_2SO_4 à saturation
4 cm³	1 cm³	3 cm³	12,5 °/o	0	—
4	2	2	25	0	—
4	2,6	1,4	32,5	Trouble	Dépôt abondant
4	3	1	37,5	Dépôt	Id.
4	3,5	0,5	43,7	Dépôt abond.	Faible
4	3,8	0,2	47,5	Id.	0

Or, les deux histones s'extraient exclusivement de la nucléoalbumine B; seul l'agent dissociateur, la rapidité et l'étendue de son action diffèrent.

Nous nous trouvions donc là en présence d'un fait étrange et qui demandait à être élucidé.

Les deux histones que nous avions obtenues par des procédés spéciaux étaient-elles essentiellement différentes ou bien n'y avait-il là qu'un phénomène de modification peu profonde?

L'action d'un chlorure, en agissant par son Cl, peut modifier certains albuminoïdes et en déterminer des transformations acides, de solubilité différente. Mais ces modifications n'ont été signalées que pour les globulines seules et notamment les pseudoglobulines. Jamais on n'a constaté de passage entre les groupes si nettement limités, semble-t-il, des albumines proprement dites et des globulines. La stabilité des albumines à l'action des sels et même à l'action combinée des sels et des acides avait été l'objet de soigneuses recherches faites par Hammarsten (*) en 1893.

(*) Hammarsten : Zeitschr. fur phys. Chemie, 1893, Bd VIII.

Force cependant nous a été d'admettre ce passage en ce qui concerne l'histone.

Les recherches auxquelles nous nous sommes livré nous ont permis :

1° d'établir l'identité des deux histones B;

2° de considérer le Cl comme agent modificateur.

A. Identité des histones B.

D'abord il était presque inadmissible que l'histone B mod. fût devenue semblable à notre histone A, parce qu'elles présentaient des analogies de solubilité.

Les caractères profondément différentiels qui séparent nos deux nucléo-albumines devaient presque d'emblée faire rejeter une idée, qui aurait été contraire à cette différentiation nettement établie.

Nous avons tenu néanmoins à confirmer nos prévisions par des essais de transformation d'une histone dans l'autre et par l'examen comparatif de leurs propriétés respectives.

Mais il n'en reste pas moins possible qu'entre l'histone B et l'histone B mod. il existe une dissemblance assez notable de constitution, car l'histone B mod. est un produit d'extraction plus complète que l'histone B. Dans le procédé de Lilienfeld, il reste un noyau protéique présentant encore quelques propriétés de substances albuminoïdes et qui a été considéré par Kossel et par d'autres comme étant de la *nucléine proprement dite* ou leuconucléine; dans le procédé de Bang, on n'obtient comme résidu que l'acide nucléinique pur et simple.

1. *Transformation de l'histone B en B mod.*

Il fallait d'abord faire subir une modification complète à l'histone B, modification identique à celle qu'elle subit dans la méthode de Bang, et qui a pour effet de diminuer sa solubilité et d'abaisser ses limites de précipitation vis-à-vis de Am_2SO_4.

a) *La transformation est réelle.*

Après avoir préparé l'histone B par la méthode de Lilienfeld à l'HCl, nous l'avons soumise à l'action de NaCl saturé. Ce sel à saturation la précipite entièrement. Le précipité a été recueilli et soumis à la dialyse pour écarter les sels. Nous avons ensuite examiné ses limites de solubilité vis-à-

vis de Am_2SO_4. Elles s'étaient totalement modifiées. Nous nous trouvions en présence d'une substance complétement insoluble entre 33 et 48 °/₀ de la solution saturée de sulfate.

L'histone B nous avait donc fourni de l'histone B modifiée.

b) *La transformation est complète.*

Cette deuxième considération est nécessaire. On pourrait sans elle ne voir dans l'action de NaCl sur l'histone B qu'une dissociation donnant pour produit une substance insoluble à la demi-saturation (histone B mod.) et un autre protéide de nature inconnue.

Il n'en est rien : la modification par NaCl de l'histone B est une modification complète. En dehors de l'histone modifiée, nous n'avons pu déceler aucune trace d'autre substance protéique dans nos préparations par les réactifs ordinaires (HNO_3, biuret, ferrocyanure + ac. acétique).

c) *La transformation est rapide.*

Le précipité formé par l'addition de NaCl dans une solution d'histone B se dépose très rapidement (en quelques minutes). Filtré immédiatement pour éviter l'action prolongée du sel, il présente d'emblée tous les caractères de l'histone B modifiée. La transformation est donc des plus rapides.

2. *Identité de caractères entre les deux histones B.*

D'autres caractères que la solubilité distinguent l'histone A de l'histone B. Ils sont basés sur les réactions différentes que déterminent les radicaux renfermés dans leur molécule.

Nous avons rassemblé ces caractères en un tableau en y joignant une autre ressemblance que présentent les deux histones B, se rapportant à une propriété que nous étudierons dans un second chapitre.

TABLEAU III.

Caractères différentiels des trois histones.

	Histone A	Histone B	Histone B mod.
Réaction du soufre labile	Faible	Nulle	Nulle
Réaction de Adamkiewicz	Très intense	Faible	Faible
Affinité de synthèse avec les sérines	Grande	Faible	Faible
Affinité de synthèse avec les globulines	Faible	Grande	Grande

B. Agent modificateur.

Nous pouvons considérer dans NaCl les deux ions Na et Cl. A première vue, il nous semblait qu'on ne pourrait incriminer l'ion Cl pour ce seul fait que nos histones étaient soumises toutes deux à l'action de cet agent, l'une par l'action de NaCl et l'autre par celle de HCl. D'un autre côté, il était difficile d'admettre que le Na puisse jouer un rôle aussi actif de modification.

Et de fait, la suite de nos recherches nous a autorisé à considérer le Cl comme l'agent réel et unique de la modification. Cette conclusion repose sur deux faits.

1. *Action similaire de* AmCl.

En agissant avec AmCl comme nous avions précédemment agi avec NaCl, c'est-à-dire en soumettant à son action l'histone B obtenue par HCl, nous sommes parvenu à modifier cette histone aussi complétement qu'avec NaCl et à la faire rentrer dans les limites de précipitation de l'histone B modifiée. Ce seul fait déjà pouvait suffire à nous mettre sur la voie de nos conclusions, le Cl étant le seul élément commun entre NaCl et AmCl.

Mais l'analogie qui existe entre le Na et l'ammonium (NH_4) au point de vue de leur action et de leur énergie commune dans un grand nombre de réactions chimiques pouvait devenir une objection sérieuse.

Il était donc de toute nécessité d'écarter la possibilité d'une action de leur part et de charger le Cl de déterminer à lui seul la modification.

2. *Action de* HCl.

La méthode de Lilienfeld est basée sur l'emploi d'une solution d'HCl à 2 ‰. Nous ne nous rappelons pas avoir constaté dans les histones B obtenues de la sorte la moindre modification dans leurs limites de solubilité. C'est ce qui nous a permis d'ailleurs d'affirmer l'existence des deux histones A et B dès le début, presque avant même d'avoir séparé les deux nucléoalbumines dont elles étaient respectivement l'un des produits de dissociation.

Rappelons d'autre part l'intensité différente de HCl et de NaCl dans leur action dissociante sur la nucléoalbumine.

L'HCl nous donne une histone et laisse comme résidu un produit où, à côté de l'acide nucléinique, se retrouve une substance protéique qu'on

avait coutume de considérer comme une vraie nucléine, leuconucléine de LILIENFELD, formée par l'acide nucléinique uni à un albuminoïde spécial.

Le NaCl dissocie totalement la molécule nucléinique pour ne nous donner que l'histone et l'acide nucléinique. Il faut donc lui reconnaître une action plus énergique.

Nous avons par une concentration plus forte renforcé l'action de HCl pour la rapprocher si possible de l'action du chlorure.

Le résultat ne s'est pas fait attendre; non pas que nous soyons parvenu à arracher à l'acide nucléinique toute substance protéique, mais nous avons pu nous convaincre de l'action spéciale de Cl dans la question qui nous occupe.

Action de HCl *à* 2,7 ‰.

Nous avons soumis à cette concentration de la nucléoalbumine B après un lavage à l'alcool et à l'éther suivi d'une bonne dessiccation en présence de $CaCl_2$ ou de H_2SO_4.

L'histone séparée et devenue soluble sous la forme de chlorhydrate a été précipitée par NH_3, lavée à l'eau distillée pour écarter les traces de AmCl qui s'était formé par suite de l'addition de NH_3 à HCl. Le précipité d'histone a été ensuite redissous dans un peu de HCl et soumis à l'action de Am_2SO_4.

Le tableau IV nous montre la limite inférieure de précipitation.

TABLEAU IV.

Solution d'histone	Solution saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentration %	Résultat
4 cm³	3 cm³	1 cm³	37,5 %	0
4	3,5	0,5	43,7	0
4	3,8	0,2	47,5	Opalescence
4	4	0	50	Dépôt abondant

La limite inférieure a donc baissé. De 55 %, elle est tombée à 47. C'est là une preuve évidente de l'action de l'HCl plus concentré.

Objection. On pourrait objecter que le AmCl formé par addition de NH_3 à une solution de HCl à 2,7 ‰ pourrait être cause de ce commencement de modification. Nous ne le croyons pas.

Il nous est facile de calculer la quantité de NH_4Cl formé.

36,5 gr^s de HCl additionnés de NH_3 donnent 53,5 gr^s de AmCl.
2,7 gr^s " " " " 3,96 gr^s "

C'est-à-dire que nous aurons une solution de AmCl de 4 $^0/_{00}$ environ.

On ne peut admettre à cette concentration une action quelconque de AmCl sur l'histone B.

Action de HCl *à* 3,6 *et* 4,5 $^0/_{00}$.

Si nous augmentons davantage encore la concentration de HCl, si nous l'amenons à 3,6 ou 4,5 $^0/_{00}$, la modification est complète et cette histone correspond alors exactement à l'histone obtenue par NaCl.

TABLEAU V.

Solut. d'histone	Solution saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentrat. %	Résultat	Filtrat saturé de Am_2SO_4
4 cm^3	2 cm^3	2 cm^3	25 %	0	0
4	2,6	1,4	32,5	Trouble	Préc. abondant
4	3	1	37,5	Dépôt	Id.
4	3,5	0,5	43,7	Dépôt abond.	Préc moindre
4	3,8	0,2	47,5	Id.	0

Avant de terminer ce chapitre, il nous restait à voir si cette action de NaCl, si énergique pour l'histone, avait également une influence semblable sur la nucléoalbumine B. Nous ne pouvions naturellement faire agir ce sel à la saturation; c'eût été décomposer la nucléoalbumine en histone et acide nucléinique. Nous avons dû nous contenter d'une concentration qui ne précipite pas encore l'histone, c'est-à-dire à 20 $^0/_0$. Cette impossibilité de le faire agir à la saturation est une considération dont nous devons tenir compte dans l'appréciation des résultats.

A cette concentration, la nucléoalbumine ne se laisse nullement modifier. Elle garde vis-à-vis du sulfate ammonique sa solubilité ordinaire, c'est-à-dire que sa précipitation par ce sel ne commence qu'à partir de 55 $^0/_0$ de sa saturation.

Enfin, après des constatations de cette importance sur l'action de NaCl à saturation, un doute général nous était survenu, et nous vérifiâmes si le sel marin à saturation ne modifierait pas les albumines et les sérines d'une

façon analogue à celle de l'histone B. Mais le résultat fut absolument négatif.

Conclusions.

Les faits sont donc clairs.

L'histone contenue dans la nucléoalbumine B est une histone B, c'est-à-dire que le composé comme le composant ont la solubilité du groupe des albumines.

Mais tandis que l'action intense des ions Cl (NaCl, AmCl, HCl) ne modifie pas visiblement les nucléoalbumines B ou les sérines, il modifie profondément la solubilité de l'histone B et rapproche ses limites de précipitation de celles des pseudoglobulines.

Malgré cela, l'histone B mod. n'a pas perdu son pouvoir additionnel avec les albuminoïdes ni même modifié son affinité de synthèse pour les pseudoglobulines.

L'histone B mod. n'est pas devenue une histone A. On ne peut admettre davantage qu'il y ait eu polymérisation par la satisfaction du pouvoir de synthèse entre molécules homologues; car le pouvoir de synthèse n'a pas subi de changement.

Le sulfate ammonique n'exerce pas d'action semblable. Il faut donc admettre que les ions de Cl ont une puissance modificatrice intense sur les albuminoïdes. Aussi il y a lieu de se défier des méthodes d'isolement tant employées par Kühne, où le sel marin intervenait si souvent à saturation. Il y aurait lieu de revoir également les expériences de Hammarsten sur les modifications de pseudoglobulines en euglobulines par des actions successives de NaCl.

Le NaCl doit être écarté des méthodes de séparation.

D'autre part, nous voyons pour la première fois un albuminoïde du groupe B acquérir une solubilité semblable au groupe A de la classification de Hofmeister par une influence relativement faible. C'est un pont jeté entre deux groupes que l'on était habitué à considérer comme profondément distincts, le passage de l'un dans l'autre n'ayant jamais été observé.

Chapitre II.

Synthèses des histones avec les albuminoïdes.

Pour marcher à pas sûrs, nous devons d'abord nous assurer de la réalité de ces combinaisons avancées par Bang; nous devons voir si nos combinaisons prévues existent; nous devons ensuite apprendre à les reconnaître par leurs caractères; enfin nous devons savoir dans quelles conditions elles se forment.

A. La synthèse des histones A, B ou B mod. avec les substances albuminoïdes natives est réelle.

Le fait étant là qu'une solution de chlorhydrate d'histone mise en présence d'une solution d'albuminoïde détermine un précipité, nous sommes en droit de nous demander quelle est la nature de ce précipité ainsi formé.

Logiquement, trois hypothèses peuvent être émises : le précipité est formé peut-être soit par l'histone seule, soit par l'albuminoïde seul, soit par une combinaison des deux.

Les recherches auxquelles nous nous sommes livré nous ont permis de mettre hors de doute la réalité d'une synthèse entre les histones et les albuminoïdes.

Voici les faits observés qui tranchent définitivement cette question.

Premier fait. *Les histones, qui sont elles-mêmes insolubles dans un excès d'ammoniaque, donnent avec les albuminoïdes un précipité qui est facilement soluble dans un excès d'ammoniaque.*

C'est le fait observé par Bang, et c'est aussi pour cet auteur l'unique preuve de l'existence réelle d'un albuminate d'histone : « Das Scombron,

- welches selbst in Ammoniak unlöslich ist, giebt mit einer Eiweisslösung - einen Niederschlag, welcher in Ammoniak ganz leicht löslich ist. -

Toute la conviction de Bang reposait donc sur cette solubilité dans NH_3 que présentait le précipité d'histone et d'albumine. Nous ne pouvons pas le nier, cette solubilité semble à première vue constituer une preuve très frappante.

Tout en admettant sa valeur directrice pour les recherches, nous ne pouvons cependant la considérer comme décisive et nous sommes obligé d'y apporter une restriction.

En parlant de l'insolubilité dans NH_3 comme caractère distinctif des histones, nous avons signalé dans notre précédent travail, p. 22, la cause d'erreur qui pouvait résulter de la présence de sels ammoniacaux.

Nous avons repris cette question avec soin pour mesurer la quantité de sels nécessaires à cette redissolution du précipité ammoniacal. Il est facile de mettre ce fait en évidence avec une solution d'histone B ou B mod.

TABLEAU I.

Solut. d'histone	Solution saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentrat. %	NH_3	Résultat
4 cm³	0,2 cm³	3,8 cm³	2,5 %	2 gouttes	Précipité faible
4	0,3	3,7	3,65	2	Opalescence
4	0,4	3,6	5	2	Rien
4	0,5	3,5	6,25	2	»
4	1	3	12,5	2	»
4	0	4	0	2	Préc. abondant

Une concentration de 4 % de sulfate ammonique supprime donc toute l'action précipitante de NH_3. En présence d'une pareille influence exercée par les sels ammoniacaux, nous sommes en droit d'objecter à la preuve de Bang que les albuminoïdes, qui renferment tant de radicaux amidés, pourraient à la rigueur exercer une influence dissolvante semblable. Or, la formation de ces supposés albuminates d'histone se fait en versant sur l'histone un grand excès d'albuminoïde.

Cette solubilité donc du précipité dans NH_3, tout en étant une réelle présomption en faveur de l'existence d'une combinaison, n'entraîne cependant pas avec elle une certitude suffisante.

Nous avons besoin d'y ajouter d'autres preuves.

Deuxième fait. *Le précipité formé contient notablement plus de* N *que l'histone présente.*

Nous consacrons un chapitre spécial à l'analyse des précipités par leur dosage de N. Nous n'en considérons ici que les résultats. En supposant que l'histone soit seule entraînée, on comprendra sans peine que le Pr ne peut contenir une quantité de N supérieure à celle de toute l'histone. Or, toutes nos analyses dénotent une augmentation considérable de N. Celles que nous considérons comme les plus exactes nous donnent les résultats suivants :

$$\text{Histone A} + \text{Sérine} : \frac{\text{N de l'histone}}{\text{N du Pr}} = \frac{57}{100}, \frac{59}{100}, \frac{62.7}{100} \qquad (1)$$

$$\text{Histone B mod.} + \text{Pseudogl.} : \frac{\text{N de l'histone}}{\text{N du Pr}} = \frac{41.9}{100}, \frac{39.5}{100}, \frac{37.2}{100} \qquad (2)$$

Les autres combinaisons n'ont pu s'analyser avec tant de précision vu les caprices de leur précipitation. Nous n'en citons pas les résultats dans nos tableaux du chapitre spécial; mais les nombreux dosages que nous avons essayé de mener à bonne fin nous ont toujours donné pour le précipité des chiffres de N notablement supérieurs à ceux de l'histone :

$$\text{Histone A} + \text{Pseudoglob} : \frac{\text{N de l'histone}}{\text{N du Pr}} = \frac{70}{100}, \frac{55}{100}, \frac{64}{100} \qquad (3)$$

Objection.

On pourrait nous objecter que cet excédent de N est dû à une partie de l'albuminoïde entraînée par de l'histone insolubilisée; on peut à la rigueur présumer que tout Pr formé au sein d'une solution albumineuse entraîne avec lui un peu d'albumine sous forme condensée.

Réponse.

a) L'excédent de N est ici trop grand et atteint dans certaines de nos analyses jusque le double de celui de l'histone même. On ne peut admettre qu'un gramme d'histone en se précipitant par neutralisation puisse précipiter par entraînement physique plus d'un gramme d'albumine d'une solution relativement diluée. (Voir Chap. des Analyses.)

b) Cet excédent de N est *trop constant.* Une erreur par entraînement

devrait nous donner des variations considérables de beaucoup supérieures à la limite de 10 % que nous constatons dans nos analyses (1) et (2).

Troisième fait. *La solubilité de la combinaison présumée dans les solutions de sulfate ammonique indique que toute l'histone au moins en fait partie.*

Nous comptons préciser plus loin les différents caractères que présentent les albuminates d'histone vis-à-vis des solutions de Am_2SO_4. Nous étudions ici ces caractères pour autant qu'ils peuvent nous servir à prouver la réalité de la synthèse.

Dans les combinaisons des histones A avec les sérines et dans celles des pseudoglobulines avec les histones B, il est possible de démontrer que l'histone est précipitée tout entière.

a) *Histone A + Sérine.*

Isolément, Am_2SO_4 précipite l'histone A à la demi-saturation, et la sérine à la saturation complète.

Le Pr obtenu par le mélange des deux solutions d'histone A et de sérine a gardé les mêmes limites de solubilité que l'histone A prise séparément. Cela nous permet d'écarter l'hypothèse que seule la sérine aurait été précipitée et nous force à admettre une précipitation de l'histone soit comme telle, soit en combinaison avec l'albumine sous la forme d'albuminate.

On peut ensuite prouver également que l'histone a complétement disparu de la solution. En effet, après avoir formé un précipité d'albuminate avec toutes les précautions nécessaires pour l'obtenir aussi complet que possible, nous décantons le liquide surnageant et nous l'amenons à la demi-saturation de Am_2SO_4 : nous ne voyons apparaître aucun trouble; c'est là une preuve de l'absence de l'histone A dans ce filtrat et par contre-coup de sa présence dans le premier dépôt formé.

Il est donc bien certain qu'elle a servi tout entière à constituer le précipité.

b) *Histone B + Pseudoglobuline.*

Le précipité formé par le mélange de ces deux corps est soluble dans Am_2SO_4 à demi-saturation; sa précipitation commence à partir de 55 % et n'est achevée qu'à la saturation complète.

Le liquide surnageant le dépôt donne à la demi-saturation un précipité

abondant de la pseudoglobuline mise en excès. Le filtrat de cette dernière précipitation soumis aux réactifs ordinaires (HNO_3, biuret, ferrocyanure + ac. acétiq.) ne décèle aucune trace de substance protéique : l'histone, ici encore, avait complétement disparu dans le précipité primitif.

Quatrième fait. *Dans les mélanges d'une solution d'histone avec une solution d'hémoglobine, le précipité formé contient le radical hémoglobinique.*

C'est à dessein que nous avons fait la combinaison des histones avec l'hémoglobine pour voir d'une manière évidente la réalité de la synthèse entre les deux substances.

La coloration caractéristique de l'hémoglobine nous permet de reconnaître facilement sa présence. Nous nous sommes donc appliqué à réaliser cette combinaison sous toutes ses variétés.

Hémoglobine	+	histone	A.
»	+	»	B.
»	+	»	B mod.

Chaque fois, le Pr s'est montré manifestement coloré ; les lavages répétés à l'eau simple, les redissolutions dans HCl (*) suivies de reprécipitations à la neutralité ne sont point parvenus à altérer cette coloration rosée si caractéristique. Or, aucune impureté d'hémoglobine ne résiste à de pareilles épurations. Quelques lavages ont toujours suffit à décolorer entièrement une globuline primitivement teintée par la présence de l'hémoglobine comme impureté.

Nous avons poussé plus loin encore les essais de séparation pour les combinaisons de l'histone A avec l'hémoglobine.

Après avoir parfaitement lavé un Pr d'hémoglobine + histone A, nous l'avons redissous, puis soumis à l'action de Am_2SO_4 à demi-saturation. On sait qu'à cette concentration l'hémoglobine reste parfaitement soluble, tandis que l'histone A se précipite entièrement. Or, la combinaison présumée qui se précipitait à cette demi-saturation était manifestement colorée et l'est restée malgré un lavage en règle par Am_2SO_4 demi-saturé.

Nous avons donc le droit de conclure à une combinaison réelle de l'hémoglobine avec l'histone.

(*) L'hémoglobine supporte le contact, même prolongé, d'une faible quantité d'acide sans subir de transformation; il suffit d'éviter un excès. L'ancienne méthode de préparation de l'hémoglobine par le sulfate acide de potasse était basée sur cette résistance insuffisamment appréciée.

Cinquième fait. *Par la réaction du soufre labile, on peut démontrer que le précipité d'albuminate d'histone présumé renferme, outre toute l'histone, une quantité notable de l'albumine ou pseudoglobuline présentée.*

Cette réaction du soufre labile, très nette pour certains protéides, est nulle pour d'autres. On l'obtient en chauffant au bain-marie ou à la flamme directe une solution d'albumine avec un excès de soude ; on additionne le tout d'une ou deux gouttes d'acétate de plomb ; la présence du sulfhydrate labile déterminera l'apparition rapide d'une teinte noire due au sulfure de plomb formé.

Il suffit donc de choisir, avec des histones ne présentant guère cette réaction, des albuminoïdes qui la possèdent à un haut degré. Cette réaction était très intense avec les solutions de pseudoglobuline et de sérine de cheval que nous avons employées. Elle était par contre très faible avec l'histone A et nulle avec l'histone B.

Nous avons soumis à cette épreuve du plomb tous nos albuminates présumés, après les avoir au préalable lavés soigneusement jusqu'à disparition complète de réaction du soufre labile dans l'eau de lavage.

Toujours, nos albuminates ont présenté une réaction de sulfhydrate si nette et si intense, qu'aucun doute ne pouvait subsister sur la présence d'une quantité notable d'albuminoïdes natifs dans le précipité.

La comparaison des solutions protéiques également concentrées soit d'histones seules, soit de l'albuminoïde seul, soit de la combinaison présumée, était très catégorique : la combinaison se comportait presque comme l'albuminoïde seul.

Conclusions.

Si nous rapprochons ces divers faits, nous constatons que le précipité formé par l'histone en présence des albuminoïdes

1° est composé de toute l'histone (3e fait);

2° contient en outre des quantités notables de pseudoglobulines, sérines, ou hémoglobines (4e et 5e faits);

3° a une richesse en N beaucoup plus élevée que tout le N de l'histone (2e fait);

4° est nettement soluble dans un excès de NH_3 contrairement à ce qui se passe pour l'histone, restriction faite de la possibilité d'une influence de la part des albuminoïdes.

Représentons en tableau ce qui se passe dans certaines de ces expériences.

Histone A. + *Sérine de cheval en excès.*
(Précipitée à la 1/2 saturation; S labile très faible, insoluble dans NH_3.) (Soluble à 1/2 saturation; S labile très intense.)

Précipité.
(Précipité à 1/2 saturation; S labile accentué; 100/60 × le N de l'histone A; soluble dans NH_3.)

Filtrat.
(Complétement soluble à 1/2 saturation; laisse précipiter à saturation l'excès de sérine employée.)

Histone B. + *Pseudoglobuline de cheval en excès.*
(Solution à 1/2 saturation; insoluble dans NH_3.) (Précipitée à 1/2 saturation; S labile intense.)

Précipité
(Soluble à 1/2 saturation; S labile intense; 100/39 × le N de l'histone B; soluble dans NH_3.)

Filtrat
(Précipite complétement à la 1/2 saturation; le filtrat de la 1/2 saturation ne contient plus de protéides.)

La preuve ne peut être faite d'une manière aussi complète pour les combinaisons des homologues, c'est-à-dire de l'histone B avec les sérines ou l'hémoglobine, ou de l'histone A avec les pseudoglobulines. Mais dans ces cas, on retrouve un précipité plus riche en N que l'histone employée; il présente la réaction du S labile ou la coloration hémoglobinique; il est soluble dans NH_3 en excès. L'hypothèse que dans ces cas l'albuminoïde se soit précipité seul à l'exclusion de l'histone étant invraisemblable, il ne nous reste qu'à accepter l'homologie complète avec les combinaisons entre les non-homologues.

Nous avons donc démontré d'une façon péremptoire l'existence de la synthèse de nos histones avec les divers albuminoïdes employés.

Ce fait avait besoin d'une démonstration plus rigoureuse que celle dont Bang s'était contenté (1er fait seul). Ces phénomènes de combinaisons entre substances protéiques sont appelés à avoir trop d'importance que pour nous forcer à n'avancer qu'à pas sûrs.

Nous avons également par cette étude prouvé une fois de plus l'existence réelle de notre histone A, sur laquelle on avait jeté quelques doutes. Nous l'avons vu se comporter partout comme une histone réelle. C'est une confirmation de notre premier travail que nous sommes heureux d'apporter ici.

B. Caractères des albuminates d'histone.

Certains caractères sont communs à tous les albuminates et d'autres sont spéciaux à chaque composé.

1. *Caractères généraux.*

Chaleur. La chaleur, même dans les solutions légèrement acides et en présence de sels, ne provoque pas de coagulation. C'est là un caractère que nous retrouvons cité depuis longtemps pour l'histone, et qui la fit ranger parmi les albumoses.

Solubilité. La solubilité des albuminates se fait surtout remarquer vis-à-vis des acides ou des bases, comme HCl, NaOH, NH_3 en solution *diluée.* Si une concentration dépassant la normale rend le Pr visqueux, gélatineux, la solubilité diminue et peut même disparaître complétement.

Sels. A part Am_2SO_4, dont nous examinerons l'action en étudiant les caractères spéciaux, nous avons à signaler NaCl, qui précipite tous les albuminates en solution saturée.

La réaction du sulfhydrate labile est intense dans tous les cas examinés. Pour être complet, nous avons à mentionner les autres réactions communes aux histones et aux albumines et que nous retrouvons ici également : Millon (radical tyrosine), biuret, Adamkiewicz (radicaux hexose et aromatique).

2. *Caractères spéciaux.*

Nous avons tout d'abord à rappeler le caractère spécial que présente l'hémoglobinate d'histone, s'il nous est permis de l'appeler de ce nom. Sa

coloration particulière, due à la présence de l'hémoglobine, le distingue physiquement de tous les autres composés.

Il nous importe davantage de considérer la solubilité spéciale que présentent les différents albuminates vis-à-vis de Am_2SO_4.

a) *Composés d'albumines et d'histones de solubilité semblable.*

Ils se comportent, comme on était en droit de s'y attendre, de la même façon que les éléments qui les composent.

Nous avons à notre disposition 3 histones :

histone A limite *supérieure* de précipitation par Am_2SO_4 (*) = 45 % sat. Nous la désignerons par A.

histone B limite *inférieure* de précipitation par Am_2SO_4 = 55 % sat. Nous la désignerons par B.

histone B mod. limite *supérieure* de précipitation par Am_2SO_4 = 47 % sat. Nous la désignerons par B mod.

Nos solutions d'albumines retirées du sérum de cheval étaient :

la pseudoglobuline limite supérieure de précipitation par Am_2SO_4 = 45 %. Nous la désignerons par Ps.

la sérine limite inférieure de précipitation par Am_2SO_4 = 55 %. Nous la désignerons par S.

Cela étant, nous constatons, comme nous venons de le dire, que

A + Ps a pour limite supérieure 45 %.
B + S a pour limite inférieure 55 %.
B mod + Ps a pour limite supérieure 45 %.

b) *Composés d'albumines et d'histones de solubilité différente.*

Ces composés comprennent :

A + Sérine. (1)
B + Pseudoglobuline. (2)
B mod. + Sérine. (3)

Nous avons constaté déjà que dans ce cas l'albuminate avait une solubilité semblable à celle de l'histone qui y était combinée. Dans les cas qui nous occupent, ces albuminates seraient donc insolubles à la demi-saturation pour (1) et (3), insoluble à la saturation seulement pour (2). L'importance que nous avons accordée à ces différences de solubilité et

(*) Nous supposons la solution saturée de 1.

les occasions nombreuses où nous y avons recours nous ont poussé à les examiner avec plus de précision. Nous ne pouvons mieux faire que de transcrire ici les tableaux qui sont le tracé même de nos expériences.

TABLEAU I.

Solubilité de [A + S] *vis-à-vis de* Am_2SO_4.

Quantité de la solution d'albuminate	Solution saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentrat. %	Résultat	Filtrat additionné de Am_2SO_4 à saturation donne
4 cm³	1 cm³	3 cm³	12,5 %	Trouble	Dépôt abondant
4	1,5	2,5	18,7	Trouble très intense	Id
4	2	2	25	Dépôt	Id.
4	3	1	37,5	Dépôt abond.	Trouble
4	3,5	0,5	43,7	Id.	0

TABLEAU II.

Solubilité de [B mod. + S] *vis-à-vis de* Am_2SO_4.

Solution d'albuminate	Sol. saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentrat. %	Résultat	Filtrat additionné de Am_2SO_4 à saturation donne
4 cm³	1 cm³	3 cm³	12,5 %	0	—
4	1,5	2,5	18,7	Trouble léger	Dépôt abondant
4	2	2	25	Abondant	Id.
4	3	1	37,5	Id.	Trouble léger
4	3,5	0,5	43,7	Id.	0

TABLEAU III.

Solubilité de [B + Ps] *vis-à-vis de* Am_2SO_4.

Solution d'albuminate	Sol. saturée de Am_2SO_4	H_2O	Concentrat. %	Résultat
3 cm³	4,5 cm³	2,5 cm³	45 %	0
3	5	2	50	Opalescence
3	5,5	1,5	55	Trouble notable
3	6	1	60	Abondant
3	6,5	0,5	65	Abondant

Remarques générales.

Constatons ici les quelques faits qui tranchent un peu sur nos manières modernes de concevoir les albuminoïdes.

Les solubilités croissantes des produits de digestion nous ont habitué à présumer que les molécules les plus petites sont en général les plus solubles.

Or, nous voyons ici des faits nettement contraires.

Dans la combinaison de l'histone B avec la pseudoglobuline, la pseudoglobuline constitue les 6/10 de la masse et pourtant cette combinaison est soluble dans Am_2SO_4 à demi-saturation comme une sérine même. Il est pourtant bien difficile d'admettre que la pseudoglobuline se soit fractionnée, et il est plus difficile encore d'admettre autre chose qu'une combinaison moléculaire entre l'histone et la pseudoglobuline. La solubilité dans Am_2SO_4 pourrait donc, dans certains cas, n'être qu'une réaction de surface moléculaire.

Nous avons été tout aussi étonné de voir ces combinaisons complexes se comporter à la chaleur comme les histones elles-mêmes; peut-on pourtant déclarer que l'union d'une pseudoglobuline avec une histone est encore une albumose? N'est-ce pas plutôt la conception de l'albumose qui doit être mieux déterminée? Un pareil fait ne peut pas servir à l'édification de vues générales nouvelles; il doit seulement nous enseigner une prudente suspicion à l'égard d'anciennes théories.

C. Conditions de formation des albuminates d'histones.

Nous aurions pu parler plus tôt des conditions de formation des combinaisons; effectivement, nous nous sommes heurté longtemps à des formations incomplètes, et nous n'avons pu édifier les paragraphes précédents qu'après avoir achevé celui-ci. Nous avons cru faciliter l'intelligence de tous les faits par l'ordre que nous avons adopté.

1. *Nécessité de la neutralité rigoureuse du mélange.*

Très souvent, il nous est arrivé, dans le début de nos recherches, de vouloir déterminer, sans y réussir, la formation du précipité d'albuminate d'histone. Nous nous sommes bien vite convaincu que la neutralité préalable des solutions de protéides jouait dans cette réaction un rôle de toute première importance. La moindre trace d'acide ou de base en excès empêche toute précipitation. Nos insuccès avaient donc pour cause HCl

que nous étions obligé d'employer dans la préparation des solutions d'histones pour en obtenir les chlorhydrates solubles. Nous verrons au chapitre des dosages comment on amène le mieux la neutralité désirée. Nous ne citons le fait ici que pour faire saisir les points qui suivent.

2. *L'albuminate d'histone ne se dissocie pas en milieu acide.*

C'est-à dire que, si l'on a formé le précipité en solution neutre, l'acide dissout bien la combinaison, mais il ne la détruit pas. Nos expériences ont surtout porté sur HCl. Nous examinerons les trois groupes d'albuminates d'histones qui ont servi à nous convaincre de cette absence de dissociation.

a) *Histone A + Sérine.*

Il va sans dire que tous nos Pr étaient au préalable lavés soigneusement pour écarter toute trace d'histone ou d'albumine qui n'aurait pas été combinée. Nous les dissolvions dans HCl à 1 % environ, dont l'action était maintenue pendant plusieurs heures.

Dans l'exemple qui nous occupe, nous savons, par les caractères spéciaux que présentent vis-à-vis de Am_2SO_4 les différentes variétés d'albuminates, que le [A+S] se précipite complétement à la demi-saturation malgré la présence de la sérine, qui seule resterait soluble à cette concentration.

En soumettant donc à Am_2SO_4 la solution d'albuminate après l'action de HCl, il aurait été facile de constater la moindre dissociation.

Le maintien de la combinaison, comme nous l'avons vérifié d'ailleurs, devait donner à la demi-saturation un Pr présentant tous les caractères de l'albuminate et un filtrat sans substance protéique.

La dissociation nous eut donné un Pr d'histone et un filtrat renfermant la sérine primitivement combinée.

b) *Histone B + Pseudogl.*

Le même phénomène, mais inverse, s'est produit. L'addition de sulfate jusqu'à demi-saturation, qui, dans le cas de dissociation, devait nous donner un Pr de pseudoglobuline redevenue libre, n'a troublé en rien la limpidité de la solution d'albuminate.

c) *Histone A + Hémoglobine.*

Nous basant toujours sur les mêmes propriétés de ces albuminates, il nous était possible de voir ici mieux encore le maintien de la combinaison.

La coloration particulière que le radical hémoglobinique donne au Pr d'albuminate était un point de repère précieux. Cette combinaison de l'hémoglobine se précipite également à la demi-saturation. Après l'action de HCl, cette concentration devait donc nous donner ou bien un Pr décoloré à la suite de quelques lavages, ce qui eût prouvé la dissociation, ou un Pr gardant comme avant sa teinte spéciale, ce qui devenait une preuve indiscutable du maintien de l'union entre l'histone et l'hémoglobine.

Quels que soient les lavages, nous n'avons jamais vu disparaître la coloration; nous sommes donc en droit de considérer comme nulle l'action dissociante des acides vis-à-vis des albuminates d'histones.

3. *La synthèse ne se fait pas en milieu acide.*

Dans le premier alinéa de ce paragraphe, nous avons signalé l'absence de précipitation en solution acide. Cette absence de précipitation n'implique pas nécessairement avec elle une absence de réaction. Vu la solubilité si grande des albuminates en milieu acide, on pouvait se demander si nous nous trouvions réellement en présence d'un défaut de combinaison ou bien en présence d'une combinaison formée, mais redissoute.

C'est la première hypothèse qui est la vraie.

Preuve. Nous verrons dans un chapitre suivant les proportions dans lesquelles s'unissent l'histone et l'albumine. Ces rapports sont tels qu'il suffit dans n'importe quel cas de mettre 2 parties d'albumine avec 1 partie d'histone pour avoir un excès certain d'albumine.

a) *Histone A + Sérine en milieu acide.*

Déterminons dans ces conditions un mélange d'histone A + sérine en milieu acide. Ces deux substances vont-elles rester libres? vont-elles se combiner et rentrer immédiatement en solution? Une combinaison, si elle était réelle, serait complète pour l'histone grâce à l'excès de sérine.

Recourons ici encore à l'action de Am_2SO_4 demi-saturé.

De toutes façons, la demi-saturation nous donnera un précipité, soit d'histone A non modifiée en cas d'absence de réaction, soit d'albuminate d'histone en cas de combinaison. Or, le précipité lavé, dialysé, livrant de l'histone insoluble dans NH_3 en excès, nous pouvons conclure à la présence de l'histone seule dans ce précipité obtenu à la demi-saturation. Donc, la combinaison de l'histone et de l'albumine ne se fait pas en milieu acide.

b) *Histone A + Hémoglobine en milieu acide.*

Si nous répétons point par point l'expérience précédente, nous obtenons à la demi-saturation de Am_2SO_4 un Pr d'histone auquel quelques lavages suffisent pour soustraire complétement la coloration caractéristique du radical hémoglobinique.

L'hémoglobine toute entière passe donc dans le filtrat, comme il advient quand on veut purifier des précipités de globulines teintés par des impuretés d'hémoglobine.

Ce fait nous démontre clairement l'absence de combinaison en milieu acide. Toutes ces expériences, basées exclusivement sur la méthode de séparation par les solutions saturées de sels, ne peuvent se répéter sur des combinaisons où albumines et histones présentent vis-à-vis de Am_2SO_4 une même solubilité. Mais l'analogie qui existe entre tous ces composés dans l'ensemble de leurs caractères nous permet de généraliser nos conclusions et de croire, que toutes choses égales d'ailleurs, les phénomènes seront partout semblables à ceux des combinaisons où la vérification nous a été possible.

Conclusion.

Il n'y a pas à chercher actuellement d'explication à ces phénomènes; il semble naturel d'admettre que l'albuminate d'histone est un vrai sel dans lequel l'histone joue le rôle de la forte base, et que les acides satisfont cette tendance aux dépens des albuminoïdes (*).

(*) Nous ne voulons pas pousser plus loin nos considérations générales. Ce serait s'aventurer dans le domaine des suppositions, où malheureusement les erreurs ne sont que trop fréquentes et parfois trop funestes.

Chapitre III.

Dosage de l'albuminate d'histone.

Comme nous l'avons fait remarquer déjà, cette étude semblait d'autant plus suggestive qu'elle touchait de près à l'un des grands problèmes de la chimie physiologique. Sans présumer de nos recherches, il nous était permis d'espérer jeter une certaine clarté sur la valeur comparative des grandeurs moléculaires des différents groupes de matières albuminoïdes.

Bang avait déjà touché la question, mais d'une façon trop approximative et à une époque où ses éléments de combinaison ne constituaient encore que des mélanges fort complexes. Nous avons voulu la reprendre en nous basant sur les classifications nouvelles ou mieux établies des histones et des substances albuminoïdes.

Nous pouvions dès lors varier nos combinaisons en faisant réagir entre eux des protéides de groupement différent. L'exactitude plus grande qui devait en être le fruit rendait l'étude plus captivante et nous faisait espérer des résultats plus notoires.

Supposons pour fixer les idées que les combinaisons se fassent dans les proportions de poids suivantes :

$$A + S = 2 + 1.$$
$$B + Ps = 1 + 2.$$

Ne serait-il pas permis de supposer qu'aux différents groupes de la classification d'Hofmeister correspond une grandeur moléculaire différente; que les premières ne sont peut-être que des molécules doubles des secondes?

Certes, ce ne sont là que des conclusions hypothétiques et qui supposent une combinaison *molécule à molécule* entre les histones et les albuminoïdes : or, nous ne sommes pas certain de l'existence d'une pareille combinaison. Aussi n'attachons-nous aux résultats de nos dosages qu'une valeur actuelle toute relative, mais avec le ferme espoir de les voir un jour contribuer puissamment à la solution de cette question.

Ces analyses semblaient de prime abord assez faciles à faire. L'expérience nous les a montrées hérissées de difficultés de tout genre qui nous

ont arrêté à chaque pas. Ce n'est qu'après de patients et longs efforts que nous sommes parvenu à des résultats dont la concordance nous permettait d'être satisfait.

Pour arriver à ces résultats, c'est-à-dire arriver à connaître dans une quantité déterminée d'albuminate d'histone la part qui revient à l'albuminoïde et celle qui revient à l'histone, trois voies nous étaient ouvertes, dont une seule réellement praticable.

1° La première consiste à mettre en présence des quantités connues d'histone et d'albuminoïde, de façon à éviter tout excès de l'une ou de l'autre. C'est un procédé idéal, mais comme tel irréalisable.

2° Une autre méthode consiste à additionner à une quantité connue d'histone un excès d'albuminoïde, de façon à déterminer une précipitation complète de l'histone. Le précipité est recueilli et dosé. Connaissant la quantité d'histone et la quantité de précipité, une simple soustraction nous donne la quantité d'albuminoïde combinée.

3° Inversement, nous pouvons partir d'une portion connue d'albuminoïde et en déduire ultérieurement la part de l'histone.

De ces trois procédés, nous avons suivi le second pour des raisons qu'il deviendra facile de comprendre par la suite du travail. Ne marchant qu'à pas sûrs, nous nous sommes surtout attaché à écarter toutes les causes d'erreurs pour arriver à des résultats capables de nous satisfaire.

Quant à la méthode particulière d'analyse de nos solutions titrées d'histone et de nos précipités, nous nous sommes servi du dosage de N. Elle nous a paru la plus exacte. La quantité de N nous renseigne sur la quantité de protéide dont il provient, si nous prenons la teneur admise généralement par les auteurs, c'est-à-dire 16 % pour les albuminoïdes, 16,5 à 17,5 % pour les histones.

A. Préparation des solutions d'histones.

Nous ne reviendrons pas sur la méthode générale de préparation.

Nous avons extrait nos histones par les procédés ordinaires :

l'histone A par la méthode de Lilienfeld à HCl à 2 ‰,
l'histone B par la méthode de Bang au NaCl à saturation.

La méthode de Lilienfeld nous donne d'emblée un chlorhydrate d'histone.

La méthode de Bang nous donne un précipité que nous soumettons à

la dialyse pour écarter les sels de l'eau-mère et que nous redissolvons ensuite dans HCl pour obtenir le chlorhydrate. Les impuretés de nucléine non attaquée ou dissoute, d'acide nucléinique et de sels, dont ces solutions sont forcément imprégnées, sont écartées par des précipitations répétées par NH_3 suivies de redissolutions dans HCl. Pour nous débarrasser ultérieurement de NH_3 qui eut enlevé toute valeur à nos analyses de N, nous soumettions l'histone à de grands lavages à l'eau distillée jusqu'à ce que toute trace d'impureté eut disparu du filtrat. Une dernière redissolution dans HCl nous rendait définitivement notre chlorhydrate d'histone.

Malgré ces précautions, les résultats de nos analyses attestaient des erreurs. Soupçonnant une impureté ammoniacale, nous nous sommes appliqué à faire une vérification minutieuse de la méthode de préparation.

Erreur due à la précipitation de l'histone par NH_3.

Le titrage de nos solutions d'histone consiste à doser N contenue dans une quantité déterminée de liquide. La teneur en N pour l'histone étant de 17 %, nous pouvions par un simple calcul, une multiplication par 6, déduire la concentration de nos solutions.

Nous pouvions contrôler cette concentration par une pesée aussi exacte que possible. Une quantité connue de la même solution était précipitée par NH_3 en l'absence de sels ammoniacaux. Ce Pr recueilli sur un filtre taré (*) était séché à 90° jusqu'à constance de son poids pour le milligramme, ce qui demandait environ 48 heures. Une nouvelle pesée du filtre nous permettait de déduire le poids de l'histone précipitée.

(*) Pour donner plus de précision à ce dosage par pesée, nous avons essayé de rechercher attentivement l'erreur qu'entraînent nécessairement les modifications du filtre. Nous avons utilisé les filtres tarés de 9 cm. dans toutes les analyses de ce genre. Plusieurs témoins nous ont servi à déterminer la moyenne de l'erreur due à la perte du seul fait de la dessiccation du filtre.

Tous nos filtres étaient préalablement soumis pendant 48 heures à une température de 90°; nous les pesions et, tandis que les uns servaient à recueillir les Pr d'histone, les autres étaient soumis à un lavage à l'eau distillée. Une seconde dessiccation suivie d'une nouvelle pesée nous renseignait sur la moyenne de l'erreur due au lavage du filtre.

Dosage des filtres témoins.

Pesée après la première dessiccation.	Deuxième pesée après lavage et dessiccation.	Perte en poids du filtre par le lavage.
0,4950 gr.	0,4858 gr.	0,0092 gr.
0,5162 gr.	0,5082 gr.	0,0080 gr.

Tous ces filtres ont sensiblement le même poids.

Nous pouvons donc, comme résultat de ces pesées, considérer la moyenne de 8,6 mgr. comme étant la perte approximative que subira le filtre dans les manipulations auxquelles nous le soumettrons.

Nous avons répété cette vérification plusieurs fois. Voici l'un des résultats obtenus.

Dosage par N.

Quantité de la solution d'histone employée	21,25 gr.
Quantité de N dosé par le Kjeldahl	13,16 mgr.
Quantité calculée d'histone = 13,16 × 6	78,96 mgr.
Quantité calculée d'histone pour 26,35 gr. de la solution d'histone, on aura	98,74 mgr.

Dosage par pesée.

Quantité de la solution d'histone précipitée	26,35 gr
Poids du filtre après l'opération	602,2 mgr.
Poids du filtre avant, en tenant compte de la moyenne 8,6	489,0 mgr.
Résultat 26,35 gr. de la solution	113,2 mgr.

Différence = 113,2 — 98,74 = 14,46 mgr.

Certes, nous ne donnons au dosage par pesée qu'une valeur approximative ; mais cependant la comparaison entre les résultats nous paraît probante. Nous aboutissons à une erreur assez grande pour nous imposer une déduction pratique : c'est que nous ne pouvons soumettre à un dosage de N une matière dont la préparation a nécessité l'emploi de NH_3.

Nous nous sommes décidé à le remplacer par Na_2CO_3. Ce procédé nous a parfaitement réussi. Le Na_2CO_3, s'il n'est pas en trop grand excès, précipite l'histone avec autant de facilité que NH_3. Nous nous mettrons également à l'abri des impuretés signalées plus haut et dont la plus conséquente est la nucléine. Le Na_2CO_3 la redissout complétement et en permet ainsi la séparation totale d'avec l'histone. Quant à l'acide nucléinique, il forme un nucléinate de soude soluble, qui passe dans le filtrat avec les autres sels.

Nous avons tenu à faire cependant une nouvelle vérification comme dernier contrôle de cette façon de procéder.

Histone A.

Dosage de N.

Quantité de solution d'histone employée	24,96 gr. (*)
N dosé par le Kjeldahl	9,8 mgr.
Calculé en histone = 9,8 × 6	58,8 mgr.
Calculé pour 25,46 gr.	59,90 mgr.

(*) Nous avons compté nos solutions en grammes et non en centimètres cubes. Nous avons cru bien faire en nous adressant à la balance pour nous donner des mesures plus exactes des quantités employées.

Dosage par pesée.

Quantité de la solution employée	25,46 gr.
Poids du filtre et du Pr sec	558,7 mgr.
Poids du filtre + l'erreur de 8,6	498,5 mgr.
Donc quantité d'histone pour 25,46 gr.	60,2 mgr.

Différence = 60,2 — 59,9 = 0,3 mgr.

Histone B.

Dosage de N.

Quantité de solution d'histone dosée	23,86 gr.
N dosé par le Kjeldahl	7,8 mgr.
Calculé en histone = 7,8 × 6	46,8 mgr.
Calculé pour 25,45 gr.	49,9 mgr.

Dosage par pesée.

Quantité de la solution précipitée	25,45 gr.
Poids du filtre + Pr sec	545 mgr.
Poids du filtre + erreur de 8,6	493 mgr.
Donc quantité d'histone pour 25,45 gr.	52 mgr.

Différence = 52 — 49,9 = 2,1 mgr.

Si, dans toutes ces analyses comparatives, nous tenons compte des erreurs dont nous n'avons pu nous affranchir et qui sont

a) erreur du filtre, pouvant aller jusqu'à 1 mgr.,

b) erreur du dosage de N par le Kjeldahl, qui n'est garanti que jusque 0,5 %,

c) erreur pouvant provenir de l'obligation où nous sommes de prendre pour l'histone une teneur moyenne en N égale à 17 %,

si donc nous tenons compte de toutes ces erreurs qui ne nous garantissent nos résultats qu'à deux mgr. près, nous avons lieu d'être satisfait.

Aussi la méthode de préparation de l'histone par Na_2CO_3 a été la seule dont nous nous soyons servi dans le courant de nos analyses. Elle nous a permis d'obtenir des solutions titrées dont l'azote était dû uniquement à l'histone, le dosage de Kjeldahl nous donnant le titre réel à 0,5 % près.

B. Préparation des solutions d'albuminoïdes.

Nos substances albuminoïdes provenaient du sérum de cheval. C'était le plus facile à nous procurer. Nous retirions de ce sérum les pseudoglobulines et les sérines au moyen de la méthode fractionnée de Hofmeister par Am_2SO_4. Nos deux Pr lavés et pressés étaient soumis à une dialyse intense pendant 48 heures pour écarter les sels ammoniacaux et également les euglobulines des pseudoglobulines (*). Nous diluions finalement le résidu de la dialyse, pour avoir nos solutions neutres qui allaient nous servir dans les réactions.

On pourrait ici nous objecter que nous nous trouvons en face d'une erreur plus considérable encore que dans la préparation de nos histones. La dialyse, si vigoureuse soit-elle, n'est pas sans laisser des traces de sels ammoniques dans les préparations d'albumines. Cette impureté minime est réelle et elle serait pour nos analyses un obstacle sérieux, si comme pour l'histone nous devions faire le dosage de nos albumines par le procédé Kjeldahl. Nous verrons plus loin comment nous n'avons pas à tenir compte de cette erreur réduite à zéro.

C. Formation des Pr d'albuminates d'histone.

Nos réactifs étant prêts, nous arrivons à la précipitation elle-même.

1. *Précipitation proprement dite.*

Une quantité de la solution d'histone exactement connue par la balance, soit 25 grammes, est additionnée d'un excès plus ou moins grand de la solution des albuminoïdes. Pour des raisons que nous verrons plus tard, il faut éviter les solutions trop concentrées d'albuminoïdes, qui auraient pour conséquence d'augmenter l'erreur de l'eau-mère, dont nous devrons tenir compte.

2. *Précipitation complète.*

La première condition pour que la précipitation soit bonne est qu'elle soit complète. Nous réalisons cette condition par notre façon même d'opé-

(*) Nous ne pouvons suivre les idées récemment émises concernant les mélanges de pseudoglobulines qui se présenteraient encore : cette subdivision-là nous paraît prématurée. D'ailleurs nous sommes persuadé que les pseudoglobulines et les sérines ne sont que des groupes et non des individualités chimiques, même dans le sang d'un même animal. Tous les travaux sur les protéides sont soumis à cet aléa.

rer : l'addition d'albuminoïde en excès. Nous avons du reste des moyens de vérification pour rechercher les traces d'histone non combinée qui seraient laissées dans le filtrat. Ces moyens de vérification varient un peu suivant l'histone ou l'albuminoïde qui interviennent dans la combinaison ; comme deux albuminates seuls ont été susceptibles d'analyses, c'est d'eux que nous nous occuperons.

a) *Histone A + Sérine.*

Nous avons ici un contrôle facile basé sur les limites différentes de précipitation des deux facteurs de la réaction vis-à-vis de Am_2SO_4. Si nous supposons toute l'histone précipitée sous forme d'albuminate, le filtrat de ce Pr ne contenant que la sérine en excès devra rester complétement soluble à la demi-saturation du sulfate ammonique. Un trouble à cette concentration décèlerait la présence soit de l'histone non combinée, soit peut-être de l'albuminate rentré en solution. Ce moyen de vérification a cependant une limite d'erreur que nous tenons à déterminer, car c'est l'erreur possible la plus importante dans nos analyses. Le Am_2SO_4 permet de reconnaître des solutions dont la concentration n'est pas inférieure à 1 pour 25000. Nos filtrats étant généralement de 60 cm^3 pouvaient donc contenir 2,4 mgr. d'histone non combinée ou d'albuminate soluble. Ces 2,4 mgr. correspondant à 0,4 mgr. de N amenaient une erreur de 0,28 cm^3 de H_2SO_4 décinormale dans la réaction qui termine l'analyse par le Kjeldahl. Nous verrons l'influence d'une pareille erreur sur nos chiffres finaux.

b) *Histone B mod. + Pseudogl.*

Ces deux substances ayant des limites semblables de précipitation vis-à-vis de Am_2SO_4, ce sel ne pouvait nous servir de moyen de contrôle. Nous avons recouru à d'autres moyens de vérification pouvant également servir dans tous les cas. L'absence de combinaison de la part de l'histone ou la redissolution partielle de l'albuminate n'est due qu'à un défaut de neutralité absolue des solutions qui interviennent comme facteurs dans la réaction.

Aussi l'addition d'une nouvelle quantité d'albumine en agissant par neutralisation, comme nous le verrons bientôt, provoque l'apparition d'un nouveau trouble. Ce trouble apparaît également et pour la même raison, si on ajoute prudemment quelques gouttes d'une solution diluée de NaOH ou de Na_2CO_3.

Ce sont là des moyens de contrôle sérieux et qui nous ont permis dans

nos résultats de ne tenir compte que des Pr où toute l'histone s'était combinée.

D. Difficultés de la neutralisation.

Dans un chapitre précédent, nous avons vu que parmi les conditions de combinaison d'un albuminoïde avec une histone, la neutralité du milieu de la réaction pouvait être considérée comme une des plus essentielles.

Cette condition était simple à réaliser dans la préparation des albuminoïdes basée exclusivement sur l'emploi des sels neutres.

Elle constituait une difficulté sérieuse dans la préparation des histones. Celles-ci, insolubles comme telles, forment avec HCl, grâce à leur caractère basique, un chlorhydrate neutre soluble. C'est sous cette forme que nous les employons. Nous devions donc, dans la préparation de leur solution, ajouter à un moment donné HCl pour les obtenir sous leur forme soluble de chlorhydrates. Mais l'impossibilité où nous étions de n'additionner que la quantité de HCl juste nécessaire pour satisfaire les chaînons basiques de l'histone, devait nous mettre en garde contre l'inconvénient, si minime soit-il, de cet excès d'acide. Grâce à l'action neutralisante des albuminoïdes eux-mêmes, nous avons pu tourner la difficulté.

Action neutralisante des albuminoïdes.

Cette action neutralisante que nous avons constatée de la part des albuminoïdes repose sur quelques expériences bien simples.

Ayant des solutions d'albuminoïdes et d'histones de concentration approximativement la même, nous constations que

2 cm³ d'histone	+	20 cm³ d'albumine	=	Pr	(1)
1 cm³ d'albumine	+	20 cm³ d'histone	=	0	(2)
20 cm³ d'histone	+	20 cm³ d'albumine	=	0	(3)

Ces résultats démontrent la nécessité pratique de mettre en réaction un excès d'albuminoïde.

Comment agit cet excès d'albuminoïde?

Non par dilution : l'addition d'eau distillée est sans action sur la formation du Pr. Il est plus raisonnable de croire que l'albumine n'agit que par neutralisation. Elle a un caractère nettement basique qui explique très bien l'affinité qu'elle présente vis-à-vis d'un acide comme HCl.

Les autres bases d'ailleurs ont une action semblable à celle de l'albumine.

Reprenons l'expérience (3).

20 cm³ d'histone + 20 cm³ d'albuminoïde = o
20 cm³ d'histone + 20 cm³ d'albuminoïde + excès d'albumine = Pr
20 cm³ d'histone + 20 cm³ d'albumine + NaOH ou Na_2CO_3 = Pr

Mais on comprendra sans peine l'impossibilité pratique d'utiliser NaOH, dont le moindre excès redissout l'albuminate d'histone.

Conclusion.

Nous voyons ici la raison pour laquelle il nous était impossible de prendre une quantité donnée d'albuminoïde et de déterminer sa précipitation complète par un excès d'histone. Nous savons pourquoi dans ces conditions la réaction n'était pas faisable.

Force nous était donc d'adopter la méthode que nous détaillons dans nos considérations préliminaires et qui consiste à prendre une quantité connue d'histone et à lui adjoindre de l'albuminoïde en excès, de façon à déterminer une précipitation aussi complète que possible. Dosant alors ce Pr et sachant la part qui en revient à l'histone, rien n'était plus simple que d'en déduire la relation de proportions entre les deux facteurs de la réaction.

E. Difficultés dans la reprise des précipités.

La question du lavage des Pr n'était pas la moins épineuse. Parmi les différentes méthodes usitées en pareil cas, trois ont été mises à l'essai.

Première méthode.

Elle consiste à recueillir le Pr à doser sur un filtre, à le laver à l'eau distillée jusqu'à ce que le filtrat ne contienne plus de trace de matières protéiques, puis à doser le tout, filtre et Pr; on connaîtra finalement le N contenu dans le Pr en déduisant du résultat total l'erreur due à la présence du filtre dans le dosage.

Cette méthode ne nous a pas réussi. Les analyses ont donné des résultats divergents. Nous devons donc considérer ces lavages comme insuffisants ou dangereux; pour peu que la neutralité soit modifiée, on redissout et perd une partie du Pr. Enfin, et c'est ici que l'erreur est la plus conséquente, les filtres contiennent une quantité de N trop considérable et trop variable que pour autoriser leur usage en pareil cas. Cette quantité de N oscille entre 1 et 1,5 mgr.

Deuxième méthode.

Nous avons essayé une autre méthode également utilisée en chimie analytique inorganique. Après avoir recueilli le Pr sur un filtre, on le lave et ultérieurement on le redissout par une solution acidulée versée sur le filtre jusqu'à disparition complète de la substance. On évite ainsi l'erreur du filtre.

Cette méthode parfaite avec des éléments inorganiques est inapplicable ici. Les substances protéiques deviennent trop facilement colloïdes, visqueuses, et la redissolution complète sur le filtre est toujours très aléatoire. Ici encore l'expérience nous a fait abandonner cette manière de procéder.

Troisième méthode.

Il fallait à tout prix éviter toutes ces manipulations erronées. Si, dans la méthode à laquelle nous nous sommes attaché, nous semblons aller volontairement au-devant d'une erreur, c'est avec la certitude de pouvoir la mesurer aussi près que possible. C'est la seule méthode d'ailleurs qui nous ait conduit à des résultats concordants.

Le mélange d'histone et d'albuminoïde fait, nous attendons une ou deux heures pour permettre au Pr de se bien déposer. Nous centrifugeons ensuite vigoureusement, de manière à tasser tout le dépôt en une masse compacte. Immédiatement après la centrifugation, nous décantions tout le filtrat et nous cherchions le *poids brut* du Pr, auquel était restée jointe une partie de l'eau-mère que la décantation n'avait pu enlever.

Après cette pesée, nous redissolvions dans une solution légèrement acidulée tout notre Pr, y compris l'eau-mère qui l'imbibe, et nous le soumettions au dosage de N.

La quantité de N ainsi obtenue avait une double origine :

a) Elle provenait de l'albuminate d'histone formée.

b) Elle était due également à une quantité connue d'eau-mère. Nous considérons, en effet, le *poids brut* du Pr comme étant pratiquement celui de l'eau-mère; en d'autres termes, nous considérons le poids réel de l'albuminate d'histone formé comme trop minime par rapport à celui du liquide qui le baigne, que pour devoir en tenir compte. Nous verrons, en étudiant l'exemple, jusqu'où peut aller cette erreur.

Si nous reprenons donc notre N total, il nous suffit, pour déterminer la part qui en revient à l'albuminate seul, d'en retrancher le N d'une quantité d'eau-mère équivalente au *poids brut* du Pr.

Le liquide d'imbibition et l'eau-mère décantée étant identiques, il nous est facile de rechercher sa teneur très exacte en N par un nouveau dosage sur une portion assez grande.

Un exemple fera mieux comprendre notre pensée.

Exemple.

Soit histone A + sérine (première analyse du tableau final).

25 gr. de la solution d'histone sont mis en présence dans un excès de sérine.

D'après un dosage préalable de la solution d'histone, nous voyons que ces 25 gr. correspondent à une teneur en N = 6,91 (*).

Le poids brut du Pr centrifugé avec son eau-mère qui l'imbibe = 1,35 gr.

Le Pr avec son eau-mère d'imbibition nous donne à l'analyse une valeur en N = 13.

De ces 13, nous devons retrancher l'erreur provenant de 1,35 gr. de filtrat.

Or, 18,15 gr. de filtrat nous donnent une valeur en N = 10 (*).

1,35 gr. correspondrait donc à $\frac{10 \times 1,35}{18,15} = 0,75$.

Si nous retranchons de 13 cette erreur de 0,75, nous aurons 12,25, que nous pouvons considérer comme étant la teneur en N du précipité sans liquide d'imbibition.

Comme dans ces 12,25 l'histone intervient pour 6,91, il devient très simple de calculer dans quelles proportions l'histone A s'est jointe à l'albumine.

Remarques.

1° Nous pouvons, maintenant et facilement, calculer la petite erreur que nous avons signalée tantôt en considérant le poids brut du Pr humide comme dû exclusivement à l'eau-mère qui l'imbibe.

Ce Pr dans l'exemple cité a une teneur en N correspondant à 12,25 cm^3 de la solution décinormale, soit en poids 17,15 mgr.

La quantité d'albuminate calculée sur ce chiffre = 17,15 × 6 = 102,9 mgr.

Le poids de l'eau-mère, au lieu d'être 1,35 gr., devient alors 1,35 — 0,103 = 1,25 gr.

(*) Le chiffre qui, ici et dans les tableaux de la fin, indique la teneur en N ne représente pas la valeur mesurée en mgr. Ce chiffre correspond à la quantité de H_2SO_4 N/10 qui a été nécessaire pour neutraliser les vapeurs ammoniacales qui y ont passé par distillation dans le procédé de KJELDAHL.

Calculé en N, nous aurons $\frac{1,25 \times 10}{18,15} = 0,68$ au lieu de 0,75.

La quantité réelle de N dans le Pr augmente légèrement. De 12,25, elle monte à 12,32.

Comme nous pouvons en juger d'après ces chiffres, l'erreur est certainement inférieure au 1/100; elle rentre de droit dans la catégorie des erreurs négligeables, car le procédé de Kjeldahl lui-même ne peut répondre d'une précision plus grande, pour nos analyses.

2° Cette façon de procéder nous a paru la plus logique. Certes, comme nous l'avons dit plus haut, nous allons volontairement au-devant d'une erreur; mais il nous est possible de la calculer et, partant, de la réduire à une quantité négligeable. Nous pouvons d'ailleurs la diminuer plus encore si nous avons soin de prendre des solutions diluées d'albumine. Le N contenu dans l'eau-mère du Pr en est d'autant réduit et finit par tomber en dessous du 1 %, comme dans l'exemple cité.

3° Cette méthode permet également de faire abstraction de la présence de *traces* de Am_2SO_4 dans les solutions d'albuminoïdes. Le N de ces sels est confondu dans le filtrat avec le N provenant des albumines elles-mêmes; en écartant l'erreur due aux uns, on écarte par le fait même l'erreur due aux autres.

4° On pourrait nous objecter qu'une précipitation de protéides est exposée à entraîner avec elle des substances albuminoïdes qui devraient rester en solution dans le filtrat. On constate ce fait à propos de certains ferments qui se laissent entraîner par des produits inorganiques.

Cette erreur est ici peu probable vue la grande solubilité dans l'eau distillée des matières albuminoïdes en contact. Cette probabilité diminue encore si nous avons soin de n'employer que des solutions diluées, d'une concentration assez éloignée du coefficient de solubilité des matières dissoutes. Si à ces considérations nous ajoutons la concordance dans les résultats obtenus, nous pouvons, nous semble-t-il, si pas récuser, du moins mettre en doute l'influence de cette cause d'erreur.

F. Dosage Kjeldahl.

A chaque série de dosages de Kjeldahl, les solutions décinormales de NaOH et de H_2SO_4, qui devaient nous servir, ont été vérifiées par l'acide rosolique, dont la sensibilité nous a paru supérieure à celle du méthylorange. L'acide rosolique se laisse influencer par l'acide carbonique de l'air, mais cette influence ne commence qu'au moment où la solution est devenue al-

caline; la persistance pendant 3 à 5 secondes d'une coloration uniformément rouge du liquide titré est considérée comme limite.

L'erreur largement évaluée par de nombreux essais sur des liqueurs titrées peut porter sur 1 goutte de solution N/10 équivalente.

Pour donner à cette erreur une valeur inférieure à 1 % des chiffres d'analyse, nous n'avons fait que des dosages d'histones, d'albuminates d'histone, ou de solution-mère livrant plus de 7 cm^3 de NH_3 en solution décinormale.

Les analyses des solutions d'histones sont même les seules dont l'erreur ne tombe pas sous le 0,5 %.

Naturellement, nous fîmes aussi chaque fois la vérification de nos réactifs par une analyse en blanc. Notamment, nous ne trouvons guère de NaOH exempte de N. Pourtant le contenu de NaOH en NH_3 est minime. Nous trouvions très constamment 0,3 de solution décinormale pour le N de 125 cm^3 de solution de NaOH employée. Nous avons tenu compte de tout cela dans toutes nos analyses.

G. Résultats finaux.

Après toutes ces longues considérations sur le procédé que nous avons suivi, sur les causes et la valeur des erreurs que nous avons pu écarter ou sur celles dont nous avons à tenir compte, il ne nous reste qu'à donner le résultat de nos expériences.

Comme nous l'avons dit au commencement de ce travail, il eut été intéressant de procéder à une grande variété d'analyses.

A + a	B + a
A + b	B + b

Nous avons vu l'inégalité d'affinité que présente une même histone pour les deux groupes d'albuminoïdes.

Les combinaisons formées de substances albuminoïdes de différente solubilité dans Am_2SO_4 donnent lieu à un Pr rapide, floconneux, qui dépose et filtre bien.

Les combinaisons formées d'albuminoïde de même solubilité vis-à-vis des sulfates se précipitent lentement, imparfaitement, sans dépôt complet, et sont d'une filtration pleine de difficultés. L'analyse devait présenter des difficultés techniques plus sérieuses encore et ne donner en fin de compte que des résultats trop sujets à l'erreur. Nous avons préféré les laisser de

côté et nous nous sommes contenté de doser les autres albuminates, qui nous semblaient d'ailleurs plus intéressants, c'est-à-dire.

A + b
B + a

Histone A + Sérine.

A	B	C	D	E	F
Quantité de la solution d'histone employée	N correspondant à cette même quantité	N du précipité + l'eau-mère	Erreur calculée de l'eau-mère	N du Pr seul	Quantité d'histone pour cent qui intervient dans la réaction
1. I 25 gr.	6.91	13	0.75	12.25	57 %
II 19.8 gr.	5.54	10	0.65	9.35	59 %
III 13.9 gr.	3.89	7.7	1.5	6.2	62.7 %

Histone B mod. + Pseudoglobuline.

A	B	C	D	E	F
Quantité de la solution d'histone employée	N correspondant à cette même quantité	N du précipité + N de l'eau-mère	Erreur calculée de l'eau-mère	N du Pr seul	Quantité d'histone pour cent qui intervient dans la réaction
I 22.20 gr.	5.55	15	0.83	14.17	39.01 %
II 23.44 gr.	5.86	15.8	0.97	14.83	39.5 %
III 18.55 gr.	4.63	13.6	1.1	12.5	37.2 %

H. Critique de nos chiffres.

Colonne A. Les chiffres de cette colonne désignent des quantités de la solution d'histone évaluées par pesées sur une balance donnant exactement le centigr. Ces chiffres sont donc rigoureusement exacts.

Colonne B. L'évaluation de N de l'histone dans ces solutions est calculée d'après la moyenne de 2 analyses pour l'histone B, une par pesée, l'autre par dosage (voir plus haut), d'après 3 analyses pour l'histone A, 2 par dosage et une par pesée. Les erreurs de ces chiffres ne peuvent être dues qu'au KJELDAHL et tombent de ce fait à une limite inférieure au 1/100.

Colonne C. Ce sont des chiffres donnés directement par le dosage; ils ne sont donc susceptibles que de la même variation que les précédents, moindre cependant ici où les quantités de N sont plus considérables; la limite atteint 1/300 et 1/250.

Colonne D. L'erreur due au KJELDAHL est ici négligeable; elle a porté sur des quantités dont les chiffres de cette colonne ne sont au plus que les dixièmes. Elle descend donc en dessous du 1 pour 1000.

Colonne E. Nous avons à rappeler également l'erreur signalée page 161, résultant de la confusion du poids brut du Pr avec le poids de l'eau-mère qui l'imbibe. Nous avons vu comment la limite en était également inférieure au 1/100.

Colonne F. Les chiffres de cette colonne sont le produit de $\frac{B \times 100}{E}$.

Dans cette colonne cependant, nous devons faire rentrer les erreurs possibles d'ordre général signalées page 156, et dues à un défaut de combinaison d'une quantité d'histone ou au maintien en solution d'une partie de la combinaison. De ce chef, pour le tableau de l'histone A + Sérine, l'erreur est certainement inférieure à 0,28, qu'on devrait additionner au chiffre de la colonne E. Pour le tableau de l'histone B mod. + pseudoglobuline, l'erreur n'est pas directement calculable, mais elle est très probablement inférieure également à 0,28 comme pour le 1er tableau. Enfin, il existe l'entrainement physique peu probable, mais possible, d'une certaine partie de l'albuminoïde en excès (page 162).

Nous devons rappeler également que les résultats de la colonne E indiquent les rapports qui existent entre les quantités de N des histones et des albuminoïdes. On ne pourrait donc les considérer comme étant également

les rapports entre les quantités réelles de ces deux substances. Il faudrait pour faire pareille déduction que la teneur en N pour 100 soit égale pour les deux corps combinés. Or, nous savons que celle de l'albuminoïde est environ 16 %; celle de l'histone oscille, d'après les auteurs, entre 16,5 et 17,5 %.

Limites d'erreur des résultats finaux.

En calculant les maximum d'erreur pour les colonnes B à 1/140 et pour les colonnes E à 2 %, on voit que le résultat final de l'analyse II dans le 1r tableau peut varier de plus de 2 % en plus ou en moins. Aussi, quoique nous eussions pu obtenir des concordances plus grandes dans trois résultats finaux, les variations de 5 % entre les extrêmes ne doivent pas nous surprendre.

Les résultats du tableau II concordent davantage. Il n'y aurait cependant rien d'étonnant à les voir dans une analyse ultérieure présenter plus de variation et osciller entre 35 et 40.

Mais hors de ces limites, il semble que nous n'ayons pas d'erreurs à craindre.

Résultats.

La comparaison de ces chiffres, même avec leur large limite d'oscillation, ne nous apprend-t-elle rien?

D'abord, il semble indéniable que, dans les deux catégories de combinaisons, la proportion de N due à l'histone diffère notablement, loin au-delà de toutes les limites d'erreurs possibles.

D'une part, elle oscille autour de 60 %, d'autre part, autour de 38 %. Or, remarquons le bien, de part et d'autre la grosse masse de la combinaison est due au protéide insoluble à la 1/2 saturation de Am_2SO_4. Il est vrai que, au lieu de l'histone B, nous avons employé le B mod. insoluble lui-même à la 1/2 saturation, mais nous avons vu au 1r chapitre qu'il ne semble pas modifier ses aptitudes de synthèse en se transformant.

Si les proportions données pour le A + Sérine avaient été

N histone : N de la combinaison : : 66 : 100

et pour le B mod. + Pseudoglobuline

N histone : N de la combinaison : : 33 : 100,

on aurait été fort tenté de s'écrier que la coïncidence était idéale, que

probablement la synthèse se fait molécule à molécule et qu'ensuite

Pseudoglobuline : Histone B. mod. : : 2 : 1

ou Histone A : Sérine : : 2 : 1 ;

en d'autres mots, l'analyse eut fait entrevoir que les molécules du groupe des globulines est une molécule doublement grosse comparée à celles du groupe des sérines.

Hélas, une pareille coïncidence n'existe pas, les différences ne semblent pas si fortes.

Il est certes probable que les molécules de la plupart des globulines sont plus grosses que celles des sérines et de leurs homologues.

Mais nous avons nous-même vu par les chapitres précédents que les exceptions surgissent de toutes parts. Rien d'ailleurs ne nous assure que la combinaison se fait molécule à molécule : il aurait été intéressant de faire l'analyse de AA ou de BB; il ne fallait pas y songer, vu la trop grande difficulté technique.

Contentons-nous de dire que les chiffres donnés par Bang, concernant les synthèses quantitatives, ne se vérifient que de très loin; qu'il y a pourtant une certaine proportion qui se maintient dans les combinaisons; et qu'enfin cette proportion plaide en faveur de la théorie qui classerait les plus grosses molécules dans les groupes globuliniques.

RÉSUMÉ GÉNÉRAL DE NOS CONCLUSIONS.

1° Nous avons dans notre premier chapitre mentionné une modification étrange de notre histone B, modification qui diminue sa solubilité vis-à-vis de Am_2SO_4 et la fait passer, d'après la classification généralement admise, du groupe des albumines au groupe des globulines.

2° Nous avons démontré que cette modification était due à l'action du Cl sous forme soit de NaCl, soit de HCl; que de plus cette modification n'entraîne pour l'histone B aucun autre changement dans ses caractères et dans ses affinités de synthèse.

3° Étudiant la précipitation des histones avec les albuminoïdes, nous avons prouvé de façon certaine l'existence d'une combinaison entre les deux éléments, déterminant ainsi la formation des albuminates suivants :

Sérine +	Histone A	1
	» B	2
	» B mod.	3
Pseudoglobuline +	Histone A	4
	» B	5
	» B mod.	6
Hémoglobine +	Histone A	7
	» B	8
	» B mod.	9

4° Nous avons étudié les propriétés de ces différents produits de synthèse et nous avons signalé cette relation intéressante que la solubilité de l'albuminate vis-à-vis de Am_2SO_4 est la même que celle de l'histone qui entre comme facteur dans la combinaison.

5° Nous avons vu la nécessité d'une neutralité absolue et démontré que la présence d'acides dans le milieu où se passe la réaction empêche la combinaison de se produire, mais n'agit pas comme agent de dissociation sur une combinaison déjà formée.

6° Le dosage nous a appris que, dans certaines limites d'erreur, ces composés ont des constantes. Elles ne permettent pas d'entrevoir un rapport aussi simple que celui auquel on devait s'attendre d'après les renseignements de Bang.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction 121
Historique. 124
Plan du mémoire 127

CHAPITRE I.

Modification de l'histone B 129

Le NaCl détermine une modification de la solubilité de l'histone B vis-à-vis du sulfate ammonique 129
A. *Identité des histones B.* Preuves : 131
1. Transformation de l'histone B en B mod. 131
a) La transformation est réelle 131
b) La transformation est complète 132
c) La transformation est rapide 132
2. Identité de caractères entre les deux histones B 132
B. *Agent modificateur.* L'agent modificateur est le Cl. Preuves 133
1. Action similaire de AmCl 133
2. Action de HCl 133
Conclusions 136

CHAPITRE II.

Synthèses des histones avec les albuminoïdes . . 137

A. *La synthèse des histones A, B ou B mod. avec les substances albuminoïdes natives est réelle.* Preuves : 137
Premier fait. Les histones, qui sont elles-mêmes insolubles dans un excès d'ammoniaque, donnent avec les albuminoïdes un précipité qui est facilement soluble dans un excès d'ammoniaque 137
Deuxième fait. Le précipité formé contient notablement plus de N que l'histone présente 139
Troisième fait. La solubilité de la combinaison présumée dans les solutions de sulfate ammonique indique que toute l'histone au moins en fait partie . . 140
Quatrième fait. Dans les mélanges d'une solution d'histone avec une solution d'hémoglobine, le précipité formé contient le radical hémoglobinique . . 141
Cinquième fait. Par la réaction du soufre labile, on peut démontrer que le précipité d'albuminate d'histone présumé renferme, outre toute l'histone, une quantité notable de l'albumine ou pseudoglobuline présentée 142
Conclusions 142

B. *Caractères des albuminates d'histone* 144
1. Caractères généraux 144
2. Caractères spéciaux 144
C. *Conditions de formation des albuminates d'histone* 147
1. Nécessité de la neutralité rigoureuse du mélange 147
2. L'albuminate d'histone ne se dissocie pas en milieu acide . . . 148
3. La synthèse ne se fait pas en milieu acide. 149

CHAPITRE III.

Dosage de l'albuminate d'histone . . . 151

A. *Préparation des solutions d'histones* 152
Erreur due à la précipitation des histones par NH_3 153
B. *Préparation des solutions d'albuminoïdes* 156
C. *Formation des précipités d'albuminate d'histone* 156
1. Précipitation proprement dite 156
2. Précipitation complète 156
D. *Difficultés de la neutralisation* 158
E. *Difficultés dans la reprise des précipités* 159
Exemple d'un dosage. 161
F. *Dosage Kjeldahl* 162
G. *Résultats finaux* 163
H. *Critique de nos chiffres* 165

Résumé général de nos conclusions 167

LA

Formation des Chromosomes hétérotypiques

DANS LA SPOROGÉNÈSE VÉGÉTALE

I. Depuis le Spirème jusqu'aux Chromosomes mûrs,

dans la Microsporogénèse d'*Allium fistulosum*
et de *Lilium lancifolium* (*speciosum*),

PAR

Jules BERGHS.

INSTITUT CARNOY, LOUVAIN. — LABORATOIRE DU PROF. GRÉGOIRE.

(*Mémoire déposé le* 1 *février* 1904).

La Formation des Chromosomes hétérotypiques

DANS LA SPOROGÉNÈSE VÉGÉTALE

I. État de la question

Il semble, d'après les derniers travaux, que la lumière commence à se faire, — nous ne parlons ici que de la sporogénèse végétale, — touchant certains stades des cinèses de maturation.

L'évolution des chromosomes mûrs de la première cinèse, depuis le moment où ils sont définitivement constitués jusqu'à la télophase de la seconde figure, semble élucidée. Les chromosomes mûrs superposent à l'équateur du premier fuseau leurs deux moitiés constitutives, leurs chromosomes-filles; ceux-ci durant l'anaphase ou dès la métaphase se clivent en deux moitiés longitudinales, qui seront les chromosomes-filles de la seconde cinèse (*).

La question de la signification des cinèses de maturation, en ce qui concerne le partage de l'élément chromatique, se ramène donc maintenant à la question de *l'origine des deux chromosomes-filles, qui constituent chaque chromosome mûr de la première cinèse.* Ce dernier point demande de nouvelles recherches. Nous les avons entreprises en étudiant la microsporogénèse de plusieurs phanérogames (**).

Les phénomènes qui se succèdent dans le noyau des microsporocytes ou cellules-mères du pollen, depuis le début du stade d'accroissement jusqu'à la constitution des chromosomes-filles de la première figure, peuvent se ranger en deux séries ou deux périodes correspondant à ces séries.

(*) Dans un travail de synthèse qui paraîtra bientôt, Monsieur le Prof. Grégoire montrera que, malgré certaines objections, ce schéma est bien celui qui résulte de toutes les dernières observations.

(**) *Lilium lancifolium (speciosum). — Allium fistulosum. — Paris quadrifolia. — Convallaria maialis.*

Une première période comprend tous les phénomènes qui aboutissent à la formation du « peloton » ou « spirème », c'est-à-dire du filament chromatique, qui, d'après la plupart des auteurs, se divise en long (*); une seconde, datant du « peloton », s'étend à tous ceux qui accompagnent la formation des chromosomes mûrs aux dépens du peloton lui-même.

En effet, le peloton, tel que nous venons de le définir, peut être considéré comme formant le point culminant de cette partie du processus de maturation. On peut chercher d'une part le lien qui l'unit aux chromosomes définitifs, et d'autre part celui qui le rattache au noyau quiescent aux dépens duquel il se constitue. Ces liens trouvés, l'origine des chromosomes-filles de la cinèse hétérotypique sera connue, et la question du partage de l'élément chromatique y trouvera sa réponse.

Depuis longtemps déjà, d'après le conseil et sous la direction de Monsieur le professeur Grégoire, nous nous sommes attaché à l'étude des cinèses de maturation dans les plantes. Toutefois, notre intention spéciale n'était pas de reprendre la seconde période délimitée plus haut; nos efforts visaient surtout la première, comportant la formation du peloton aux dépens du noyau quiescent. De nombreux auteurs, en effet, s'accordaient à reconnaître une même sériation des phénomènes concernant la seconde période : nous ne comptions donc pas nous y attarder. Si nous changeons notre plan, c'est qu'une vérification nouvelle s'en impose encore, en raison de travaux récents qui sont opposés au schéma général des botanistes. Nous avons donc jugé préférable de publier dès maintenant nos résultats touchant la formation des chromosomes aux dépens du peloton; et nous réservons pour un prochain mémoire nos observations, — encore à compléter pour le moment, — sur la formation du peloton lui-même. — Nos observations pour le présent travail ont été faites sur *Allium fistulosum* et *Lilium lancifolium* (**).

D'après les travaux de la plupart des botanistes (***), voici le schéma

(*) Lorsque nous disons « peloton » (spirème et dolichonema), nous voulons simplement signifier le « stade peloton », sans trancher la question de savoir si le filament qui caractérise le noyau à ce stade est unique ou multiple. — Pour des raisons que nous apportons plus loin, nous croyons probable qu'il est multiple.

(**) Un mot de nos méthodes de préparation. Les matériaux qui nous ont servi ont été fixés par les liquides de Hermann et de Flemming. Les coupes — de 5 à 7 1/2 microns — ont été colorées surtout par l'hématoxyline au fer de Heidenhain. Certaines ont été traitées par la safranine anilinée, ou l'hématoxyline de Delafield.

(***) Guignard 98. — Grégoire 99. — Strasburger 00. — Koernicke 01. — Schniewind-Thies 01. — Ernst 02. — Mottier 03.

qui tendait à s'établir comme représentant dans ses grandes lignes la sériation exacte des phénomènes constituant la seconde période que nous envisageons.

1° Le peloton est un filament portant sur un substratum lininien une série de disques nucléiniens ou de chromomères.

2° Une *division longitudinale véritable* s'y fait : elle débute par la bipartition axiale des disques et s'achève par le clivage du substratum. Il en résulte deux filaments de constitution analogue à celle du peloton qui leur a donné naissance. Ils demeurent entrelacés et entortillés par suite de ce que le peloton a dû se tordre et se courber pour placer son corps déroulé dans la cavité nucléaire restreinte.

3° La segmentation transversale y découpe le nombre réduit de chromosomes. Ceux-ci sont donc faits de deux moitiés longitudinales entrelacées.

4° Leur achèvement (*) se fait par épaississement. Celui-ci est dû à un rapprochement et une condensation des chromomères.

5° Vers la fin du stade d'achèvement, une seconde division longitudinale débute dans chacun des chromosomes-filles.

Tel est le schéma que la majorité des botanistes reconnaissent.

Cependant deux interprétations isolées lui sont opposées. En effet, dans une étude parue en 1901, Dixon expose de nouveau sa théorie du repliement énoncée déjà en 1895, et Farmer et Moore, dans une note préliminaire parue dernièrement (1903), introduisent dans le domaine botanique (**) une théorie de l'origine des chromosomes hétérotypiques analogue à celle que Montgomery a récemment énoncée pour les batraciens (***).

Dixon, 01, reprend plus longuement l'étude des cinèses polliniques de *Lilium longiflorum*. Elle lui fait adopter le schéma suivant :

1° Le *dolichonema* se dégage du réseau remplissant le noyau du microsporocyte. C'est un filament mince, énormément long, portant sur un substratum lininien une série unique de chromomères.

2° Sans changer de nature, il se dispose en *strepsinema*. Dixon désigne par là la disposition de l'élément chromatique consistant en ce que celui-ci

(*) Nous donnons le nom « d'achèvement chromosomique » à ce stade pendant lequel les chromosomes, nettement individualisés et constitués déjà de deux chromosomes-filles, atteignent la forme définitive qu'ils possèdent à la fin de la prophase hétérotypique.

(**) L'interprétation de Farmer et Moore n'est au fond pas différente de celle que Strasburger et Mottier ont proposée en 1897 et abandonnée ensuite, le premier en 1900, le second en 1903.

(***) Janssens et Dumez 03) ont démontré que l'opinion de Montgomery ne s'applique pas aux batraciens.

est formé de filaments appairés et entrelacés. D'après l'auteur, le dolichonema se replierait sur lui-même en différents endroits; les portions ainsi rapprochées s'accoleraient deux par deux et s'entrelaceraient. C'est par ce moyen que se formerait le *strepsinema*.

3° La segmentation transversale découpe ensuite le nombre réduit de chromosomes. Ceux-ci ont la forme d'anses ou de boucles, dont chaque branche représente une partie du dolichonema.

4° Les chromosomes ainsi formés se raccourcissent et s'épaississent, les chromomères se confondant en une masse dense et homogène. Ce durant, l'entrelacement se réduit à un tour au maximum.

5° Dans le courant du stade d'épaississement, probablement, s'ébauche déjà la division longitudinale qui s'achève à la métaphase de la première cinèse de maturation.

Comme le titre de leur travail l'annonce, Farmer et Moore ont fait de nouvelles recherches sur les phénomènes de réduction tant dans les animaux que dans les plantes. Malheureusement, ils n'ont encore fait qu'exposer leurs conclusions dans une note préliminaire bien courte, et en ce moment encore leur travail complet nous est inconnu. Notons d'abord que presque toutes leurs figures sont dessinées d'après les aspects offerts par les spermatocytes animaux : la polarité manifeste des anses nucléiniennes le dit. Mais les auteurs affirment que tous les phénomènes, la polarité exceptée, sont les mêmes dans les deux règnes. Dans les plantes, leurs observations s'adressèrent à *Lilium*, *Osmunda*, *Aneura*. En regard de celles-ci, nous mettrons donc nos propres observations concernant l'*Allium fistulosum* et le *Lilium lancifolium (speciosum)*.

Voici le schéma de Farmer et Moore :

1° Spirème répondant au schéma classique.

2° La division longitudinale, pouvant amener une « wide divarication » des moitiés produites.

3° Apparition des chromosomes en nombre réduit.

4° Les chromosomes se contractent et se courbent en anses. Petit à petit, les anses rapprochent leurs branches, les mettent en position parallèle ou les entrelacent : les chromosomes ont ainsi une forme de boucle ou d'U.

5° Le rapprochement des deux branches s'achève. Pendant ce temps, la division longitudinale, accomplie dans chacune d'elles, revient de son écartement primitif et peut paraître oblitérée.

6° Mûrs, les bâtonnets s'insèrent à l'équateur : ils se brisent au point de courbure, et la division longitudinale première reparaît dans les chromosomes-filles, qui vont aux pôles.

De ce que vous venons de dire, il résulte que Dixon et Farmer et Moore se séparent de la majorité des botanistes en admettant que les chromosomes-filles de la première cinèse sont des *tronçons transversaux du spirème*, rapprochés l'un de l'autre et entrelacés plus ou moins étroitement. Mais ils diffèrent entre eux touchant le stade où se produirait cet accolement. Pour Dixon, l'accolement formerait le strepsinema à l'aide du spirème. Pour Farmer et Moore, le strepsinema serait dû à une division longitudinale et subirait seulement lui-même l'accolement de ses tronçons, deux à deux. Le tableau suivant résume l'état de la question.

Si nous désignons par :

I, le stade spirème,

II, le stade strepsinema,

III, le stade des chromosomes mûrs,

nous pouvons dresser le tableau ainsi :

1° Passage de I à II par division longitudinale ; 2° de II à III par raccourcissement.	1° Passage de I à II par recourbement ; 2° de II à III par raccourcissement.	1° Passage de I à II par division longitudinale ; 2° de II à III par recourbement.
Généralité des auteurs.	Dixon 01.	Farmer et Moore 03.

Nous exposerons maintenant nos propres observations, les accompagnant d'une sériation soigneuse; et à l'aide d'elles, nous discuterons la théorie de Dixon et celle de Farmer et Moore.

II. Observations Personnelles.

Avant tout, deux remarques :

1° Dans la description qui va suivre, nous emploierons l'expression « division longitudinale » à propos du spirème. Par là, nous voulons signifier simplement *l'apparition dans toute la longueur du filament chromosomique* de deux filaments plus ou moins parallèles. Nous n'entendons nullement trancher la question de savoir, si cette « division longitudinale » est réelle, c'est-à-dire consiste dans le clivage d'un filament réellement indivis, ou bien si elle n'est pas simplement la réapparition de deux filaments distincts, accolés au stade synaptique pour former un spirème *apparemment* indivis. Ce point fera l'objet de notre prochain mémoire.

2° La question actuelle est uniquement une question de sériation. Il s'agit de savoir si, de la fente qui sépare les deux chromosomes-filles dans chaque chromosome mûr, on remonte sans interruption à une fente longitudinale, — dans le sens que nous venons de définir, — apparue dans le spirème; ou bien si cette fente définitive n'est pas la fente primitive du peloton. Il importe donc de suivre pas à pas l'évolution du spirème. Notre sériation reposera sur deux bases pour ainsi dire : d'abord, comme on le sait, on trouve souvent échelonnés dans une même anthère les stades successifs. On peut donc les suivre facilement. De plus, nous nous efforcerons de ne rattacher une forme donnée qu'à des formes tout à fait voisines, tellement voisines qu'il n'y a pas moyen d'intercaler entre elles un stade spécial.

Après ces deux remarques préliminaires, nous passons à l'exposé de nos observations. Elles tiendront en peu de lignes. En effet, la décision de la question actuelle, comme nous venons de le dire, dépend uniquement de la sériation. Nous n'aurons donc que celle-ci à exposer.

Nos FIG. 1 et 9 représentent le spirème. Il vient de se dégager du « grumeau synaptique. » Ses segments se projettent en tous sens, passant les uns au-dessus des autres, se tordant sur eux-mêmes, quittant un niveau occupé déjà pour en rejoindre un autre. Les anses en un mot se serrent comme elles peuvent dans la chambre si restreinte du noyau. Ce filament est-il unique ou multiple, ou en d'autres mots, le peloton est-il continu? A toute profondeur du champ microscopique, à un niveau où certainement le rasoir n'est pas venu déranger la structure, il peut être donné d'observer des bouts libres. D'autre part, GRÉGOIRE et WYGAERTS (03) ont encore démontré récemment qu'il n'y a dans les cinèses somatiques ni pelo-

ton-mère, ni peloton-fille. Nous considérons donc comme au moins très probable que le noyau contient à ce stade des filaments chromosomiques indépendants.

Nous ne nous arrêterons point à décrire la nature du filament nucléinien, FIG. 1, *a*. Qu'il soit purement chromatique ou fait d'un substratum de linine supportant une rangée unique de disques chromatiques (de chromomères), nous pouvons en faire abstraction ici, vu le but de la discussion qui nous occupe. La question qui nous intéresse est celle du fait de son clivage, abstraction faite du mécanisme de ce processus.

D'autre part, nos FIG. 3 (*) et 10*a*, 10*b*, montrent le strepsinema. La question qui se pose d'abord est donc celle du passage de la disposition des FIG. 1 et 9 à celle des FIG. 3 et 10*a*, 10*b*. Nous allons voir, d'accord avec la plupart des botanistes et avec FARMER et MOORE, contre DIXON, que ce passage se fait par une « division longitudinale », — dans le sens défini plus haut, — subie par le spirème.

D'abord, nous observons nettement dans le spirème la division longitudinale.

Pour le prouver, nous ne nous arrêterons pas à rechercher une double rangée de « granulations » chromatiques ; nous suivrons les fentes évidentes que nous voyons se faire. Dans une même loge d'anthère, soit du *Lilium*, soit de *l'Allium*, on trouve des noyaux en synapsis à côté d'autres qui s'en déroulent, des noyaux où le peloton ne montre aucune fissure évidente à côté d'autres où il en montre, FIG. 1, en *x*, — 2*a*, — 2*b*, — 10. Cette fente peut être large dès le début, FIG. 2*a*, 2*b*.

Dans un même noyau, on trouve un mélange, en proportions variables, de filaments non clivés et de filaments clivés en deux moitiés plus ou moins écartées, FIG. 2. — Plus loin, dans la même loge, on trouve le stade de strepsinema achevé, FIG. 3, 10*a*, 10*b*.

Le clivage longitudinal du spirème est donc évident.

Or, par le moyen de cette division longitudinale, nous rattachons sûrement le spirème au strepsinema, et il suffit de comparer les FIG. 2 et 3 10 et 10*a* et *b*, pour se convaincre que *la fente apparue dans le spirème est bien celle qui sépare les deux filaments entrelacés du strepsinema* et qu'il ne s'est produit aucun accolement, comme le décrit DIXON (**).

(*) Le graveur a rendu beaucoup trop épais le filament chromosomique 3 *c*.

(**) Rien ne remplace l'examen direct des préparations. Tous les stades y sont successivement offerts en grande abondance.

Le raccourcissement et l'épaississement ne se sont pas arrêtés durant le clivage, et à peine celui-ci est-il achevé, que nous constatons que les chromosomes sont présents en nombre réduit. On peut en suivre plusieurs sur toute leur longueur.

Les chromosomes, au sortir du stade strepsinema, sont donc faits de deux parties, moitiés longitudinales d'un filament originairement simple en apparence et que nous avons vu se cliver. Ils sont ténus encore et longs, et leurs moitiés s'entrelacent. Ils se courbent d'après les exigences de la place exiguë qu'ils occupent, FIG. 3 *a*, *b*, *c*, — 10 *a*, *b*, — 11 *a*, *b*.

Maintenant commence pour eux l'achèvement, c'est-à-dire l'acheminement vers la forme dense et trapue, qui les caractérise quand le fuseau est prêt à les saisir, FIG. 8 *a*, *b*, *c*, *d*, — 15 *a*, *b*, *c*, *d*. FARMER et MOORE, au début de ce stade, décrivent un repliement des chromosomes clivés et un accolement entre les deux branches de repliement.

Pour nous, cet achèvement des chromosomes se fait uniquement par l'épaississement que provoquent le raccourcissement et la condensation progressive. Et il est certain que la fente qui sépare les filaments jumeaux du strepsinema est bien celle qui persiste entre les deux chromosomes-filles du bâtonnet hétérotypique achevé. Nous prions le lecteur d'examiner la série de figures, FIG. 3 à 8, — 10 à 15. Non seulement ces aspects se lient étroitement, sans hiatus, les uns aux autres, mais de plus d'autres garanties de sériation exacte nous sont encore données. Les différents niveaux d'une même loge pollinique nous sérient eux-mêmes ces aspects. Cette série montre à toute évidence l'épaississement graduel et l'identité entre la fente des chromosomes mûrs, d'une part, et, d'autre part, la fente du strepsinema.

Quand les chromosomes sont déjà notablement épaissis, bien que de longueur plus grande encore que celle qu'ils ont à maturité complète, FIG. 7 *c*, on observe dans les chromosomes-filles des aspects interprétés ordinairement comme prélude d'une division longitudinale. Le bâtonnet paraît encore irrégulièrement condensé ; cependant à certains endroits, on voit manifestement une zone axiale claire. Probablement, une division longitudinale se fait. Tous les auteurs, d'ailleurs, se rencontrent à ce stade pour le dire, nous n'insisterons pas davantage.

III. Discussion critique des résultats.

Telles sont les observations que nous avons faites. Elles excluent tout accolement soit au stade où Dixon le met, soit à celui où le placent Farmer et Moore. Il nous reste à les comparer aux descriptions de ces auteurs et à aborder les arguments dont ils étaient leur manière de voir.

Pour Dixon, d'abord, le passage du dolichonema au strepsinema se fait, ainsi que nous l'avons rappelé, par recourbement et rapprochement et non pas par division longitudinale.

Avant d'entamer la discussion, il convient de faire une remarque concernant le sens et l'emploi du mot dolichonema. Employé par Dixon et par d'autres auteurs, il ne désigne pas absolument le même stade. En effet, Dixon fait intervenir le synapsis vers la fin du stade dolichonema, alors que précisément d'autres nomment dolichonema le filament qui sort de synapsis (*). Or, vu la longue durée de ce stade de contraction et l'épaississement que le filament y subit, — épaississement dont le mécanisme n'est pas connu, — on pourrait se demander si le dolichonema que Dixon déclare se recourber est bien celui que d'autres auteurs disent se cliver.

C'est bien toutefois ainsi qu'il faut comprendre Dixon. En effet, la contraction synaptique se produit toujours au même instant du développement, c'est-à-dire au principe des phénomènes cinétiques proprement dits. Il en résulte, puisque le Professeur de Dublin la place à la fin de son stade dolichonema, que le filament nucléinien d'alors est comparable à celui que tous les auteurs placent en tête de leur description. A ce moment, de plus, Dixon le décrit comme constitué d'une série de chromomères fixés sur le support lininien (Dixon, fig. 1).

Dans le filament nucléinien donc, récemment sorti de synapsis, nous avons décrit une « division longitudinale » donnant naissance au strepsinema. Dixon, au même moment, décrit la formation du strepsinema lui-même comme due à un repliement, suivi d'accolement, de deux portions du filament primitif. Les deux descriptions s'excluent : l'une d'elles ne peut être vraie.

Pour prouver le repliement, Dixon recourt principalement à des arguments indirects. Il reconnait qu'il n'est pas possible de le suivre sur un

(*) Ainsi, par exemple, Muerbeck, 02, et Juel, 03, disent en termes explicites que le synapsis vient avant le dolichonema. Sargant, 96,97, dit que le peloton se prépare durant la contraction synaptique, de laquelle il se dégage.

matériel fixé. Toutefois, il donne une figure (Dixon, fig. 10) qui le montrerait se faisant et dont nous dirons d'abord quelques mots. A ce moment, on verrait des « approximating portions still more distant from one another than they are in the strepsinema condition, » mais toutefois déjà « an indication of the looping and twisting of the thread can be made out ».

Cette fig. 10 nous paraît peu démonstrative, si toutefois elle est bien postérieure au spirème définitif. Toute coupe mince faite dans le noyau doit, en toute hypothèse, en montrer autant. Le filament chromatique, en effet, est énormément long, et il décrit de nombreuses anses dans la cavité nucléaire : il est possible que plusieurs de ses tronçons soient portés à un même niveau et dans une direction plus ou moins parallèle. Toute anse ne doit donc pas être interprétée comme un rapprochement en vue d'un accolement.

A cette figure de Dixon, nous opposons notre sériation : noyaux à filament non fendu, fig. 9, — à filament fendu en certains endroits, fig. 1, en *x*, — 2 *a*, — 2 *b*, — 10, — à filaments presque tous fendus mêlés à d'autres simples encore, fig. 2, — et passant ainsi sans lacune au strepsinema.

Venons-en maintenant aux arguments indirects de Dixon. Mais auparavant, nous ferons une remarque générale sur la sériation de ses figures.

Nous avons, dans ce qui précède, établi qu'il n'y a pas d'accolement entre les tronçons du spirème définitif tel que l'entendent les auteurs. Cela étant, puisque la figure 2 de Dixon paraît correspondre à notre strepsinema, elle ne peut se rattacher par l'intermédiaire réel d'un accolement à sa figure 1, si celle-ci représente réellement le dolichonema définitif.

Mais, nous l'avons dit, Dixon appelle déjà dolichonema le filament mince qui va entrer en synapsis. Si sa fig. 1 représente ce stade initial, il se peut qu'entre sa fig. 1 et sa fig. 2 il y ait eu réellement un accolement. Seulement, s'il en est ainsi, la sériation est incomplète : l'accolement qui se serait produit entre les tronçons du filament primitif devrait aboutir à constituer un spirème épais, et ensuite dans ce spirème réapparaîtraient, sous forme de division longitudinale, les filaments primitivement accolés. Telle doit être, s'il se produit quelque part un accolement, la série complète des phénomènes. Entre la fig. 1 de Dixon et sa fig. 2, il manquerait donc, dans ce cas, une figure montrant le réel accolement et une autre montrant le dolichonema définitif.

Peut-être Dixon n'a-t-il pas tenu compte de l'épaississement que subit le filament entre le moment de l'entrée en synapsis et celui de la sortie et a-t-il pris pour homologues le spirème ténu et le spirème épais. D'où, ayant vu

un accolement entre tronçons du spirème ténu, il n'a pas distingué et l'a admis simplement entre les tronçons du dolichonema, quel qu'il soit.

On comprendra, d'après ce que nous venons de dire, que peut-être certains arguments indirects de Dixon pourront insinuer un accolement, mais que cet accolement, s'il est réel, a dû se produire avant le spirème définitif, tel que tous les auteurs le comprennent, et que nous mettons à la base de nos descriptions, et auquel Dixon compare le sien.

Nous basant sur les considérations qui précèdent, nous pouvons répondre aux arguments indirects de Dixon.

Il trouve un de ceux-ci dans la comparaison entre l'épaisseur de filaments doubles et entrelacés, d'une part, et, d'autre part, de filaments minces, mélangés dans un même noyau. (Dixon, fig. 2, — notre fig. 2). « Where it (the thread) is double, the diameter of each of the portions is « apparently equal to the diameter of the single thread, » et il ajoute : « if the two portions were really derived by the fission of the simple « thread it is evident that the simple portion should be nearly double as « thick as each of the two twisted portions ». Nous répondrons simplement que, *consécutivement au dolichonema définitif*, nous ne rencontrons jamais d'aspects semblables. Lorsque nous voyons dans un même noyau des filaments apparemment simples, fig. 2, ceux-ci sont toujours d'un diamètre double de celui de chacun des filaments entrelacés. *C'est pourquoi*, si la figure 2 de Dixon n'est pas une synthèse d'aspects aboutissant au spirème définitif et d'aspects ultérieurs, — synthèse provenue de ce que Dixon ne sépare pas le dolichonema postsynaptique du présynaptique, — nous ne trouvons qu'une explication à sa figure, la suivante : s'il y a une partie simple dans le noyau à ce stade, elle est due à un accident de préparation, — ou bien au grand écartement qui fait qu'on ne retrouve pas la moitié sœur. Nous savons que cet écartement considérable est fréquent.

La division longitudinale, argue encore le professeur Irlandais, encombrerait le noyau de filaments. Or, on constate le contraire. Après le stade de strepsinema, on y lit plus aisément qu'au stade dolichonema. Les fig. 1 et 2 établissent la comparaison. Certes, quand un long filament, couvrant la lumière d'une cavité d'un treillis serré, se clive sur toute sa longueur, les ouvertures claires laissées entre les anses du filament lui-même deviennent plus petites. Mais si le filament, avant de subir cette division, s'est épaissi notablement, il n'en sera pas ainsi. C'est le cas du noyau qui nous occupe : le dolichonema de Dixon (sa figure 1) ne peut être celui qui se clive : avant de le faire, il a subi un épaississement, comme nous le disions plus haut

Il est généralement reconnu que la « division longitudinale » du spirème maturatif s'accompagne d'un grand écartement des moitiés produites : des anses secondaires mêmes peuvent être formées par l'une d'elles ; nécessairement ces écarts supposent un glissement de l'une sur l'autre. Le rapprochement suivi d'accolement, insinue Dixon, les expliquerait mieux, car la nucléine est matière visqueuse. — Abstraction faite de la nature de la division longitudinale, qui nous est inconnue, — à cause de l'absence de renseignements sur les stades antérieurs, — et des rapports exacts de l'une à l'autre des moitiés produites, Dixon ne peut nous faire opposition par ce glissement. On ignore les propriétés physiques de la nucléine aux différents stades de son évolution, et tous les auteurs recourent à ces glissements de segments nucléiniens les uns sur les autres. Dixon, d'ailleurs, y recourt également, par exemple quand dans les chromosomes à branches entrelacées, il fait se réduire, durant l'achèvement, l'entrelacement à un seul nœud ou moins encore. — Notons toutefois qu'il est possible que ces écartements notables des moitiés de clivage impliquent un accolement. Mais celui-ci ne s'est certainement pas produit au stade où Dixon le met, c'est-à-dire entre tronçons du dolichonema définitif.

Dixon s'appuie encore sur la présence de « boucles » terminant des portions du strepsinema, à un moment où la segmentation transversale ne peut encore avoir eu lieu. Il faut remarquer d'abord que la segmentation du spirème, — (même si cette segmentation doit se produire et que le peloton est continu, ce que nous ne croyons pas), — est fort difficile à saisir, d'après les données des auteurs. De plus, et ceci est plus important, si la présence de ces boucles démontre ou du moins insinue un accolement entre filaments chromosomiques, il ne s'ensuit pas que cet accolement se soit produit au stade de dolichonema définitif et non pas avant ce stade. Si, en effet, c'est un accolement qui a donné naissance au spirème définitif et qui reparaît plus tard sous forme de division longitudinale, il est naturel de retrouver dans ce dernier phénomène des formations en boucles.

Nous concluons donc avec la majorité des auteurs contre Dixon que le passage du stade dolichonema définitif au stade strepsinema se fait par « clivage longitudinal ».

C'est à l'origine du stade d'achèvement chromosomique que Farmer et Moore placent le repliement et l'accolement des tronçons du spirème clivé. Les chromosomes obtiennent ainsi la forme d'anses ou de boucles.

Chacune des branches de celles-ci représente un tronçon du peloton et dans chacune persiste la division longitudinale ; seulement cette dernière s'efface, les moitiés de clivage se rapprochant de nouveau jusqu'à oblitération de la fente originelle. (FARMER et MOORE, fig. 2, 3, 4.)

Nous ne connaissons pas encore en détail les observations sur lesquelles FARMER et MOORE appuient leur théorie, pour les végétaux. Ils insistent sur la sensibilité spéciale que montrerait la nucléine au moment du recourbement en anses, et qui aurait faussé les recherches des observateurs antérieurs. Ces derniers n'auraient pas vu le recourbement; seul d'ailleurs, le recourbement explique les chromosomes en forme d'anses.

Dans nos observations sur les cellules-mères du pollen, nous n'avons pas remarqué cette sensibilité spéciale que montrerait l'élément nucléinien au sortir de la division longitudinale. De plus, il n'y a pas cette polarité des anses nucléiniennes, qui caractérise le stade « bouquet » des spermatocytes animaux. Ici, le peloton s'ordonne comme il peut dans la cavité nucléaire.

Certes, quand il est possible de suivre pour la première fois un chromosome sur toute sa longueur peu après le clivage du peloton, on ne le voit pas tout droit. Souvent il est fortement courbé. Il est encore long en effet, plus long que le diamètre du noyau. Mais la courbure n'est pas toujours en son point milieu, FIG. 3*b*, 4*a*, 4*b*, et n'est pas unique; souvent, les chromosomes sont courbés en plusieurs endroits, FIG. 3 *a*, *b*, 5 *a*. — De plus, *nous ne voyons pas ces courbures s'accentuer et aboutir à un accolement des deux branches.* Pourtant, les aspects se sérient naturellement, une seule loge nous montrant tous les aspects intermédiaires depuis le peloton clivé jusqu'aux bâtonnets courts et gros déjà.

Nous voyons simplement la fente du peloton persister entre les deux moitiés des chromosomes, et celles-ci s'épaissir graduellement et prendre une forme plus ou moins droite. Nous insistons sur l'épaississement graduel que les chromosomes subissent et que nos figures représentent. En effet, le recourbement tel que FARMER et MOORE le décrivent entraînerait un épaississement brusque au début du stade d'achèvement chromosomique, c'est-à-dire dès que l'accolement des deux branches de recourbement se serait réalisé. Or, on n'observe qu'un épaississement graduel. — Enfin, FARMER et MOORE ne montrent pas la progression qu'ils exposent. Il y a un grand intervalle entre les figures 4 et 5 de ces auteurs.

Nous concluons donc que la sériation complète exclut également un accolement tel que FARMER et MOORE le décrivent.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

De ce que nous venons d'exposer, nous croyons pouvoir conclure, que

1° Le stade spirème définitif s'enchaîne au stade strepsinema par « division longitudinale » et non pas par recourbement et accolement, comme le dit Dixon.

2° A partir du stade strepsinema, les chromosomes s'achèvent par épaississement et raccourcissement progressifs, et ne subissent pas le recourbement et l'accolement que Farmer et Moore leur attribuent.

3° Donc les deux moitiés que sépare la cinèse hétérotypique sont deux « moitiés longitudinales » du filament spirèmatique.

4° S'il y a accolement, il faut le chercher lors de la formation même du spirème définitif. C'est le point que nous étudierons dans notre prochain mémoire.

BIBLIOGRAPHIE.

1901 *Dixon :* On the first mitosis of the spore-mother cells of Lilium; Notes from the Botanical School of Trin. Coll. Dublin.

1902 *Ernst :* Chromosomenreduction, Entwickelung des Embryosackes und Befruchtung bei *Paris quadrifolia* und *Trillium grandiflorum;* Flora.

1903 *Farmer et Moore :* New investigations into the reduction phenomena of animals and plants; Proc. of the R Soc., v. LXXII.

1899 *Grégoire :* Les cinèses polliniques chez les Liliacées; La Cellule, t. XVI, 2d fasc.

1903 *Grégoire et Wygaerts :* La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques. I. Racines, etc.; La Cellule, t. XXI, 1er fasc.

1898 *Guignard :* Sur la formation du pollen et la réduction chromatique dans le *Naias major*; Arch. d'Anat. microsc.

1903 *Janssens et Dumez :* L'élément nucléinien pendant les cinèses de maturation des spermatocytes chez *Batrachoseps attenuatus* et *Pletodon cinereus*; La Cellule, t. XX, 2d fasc.

1903 *Juel :* Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Samenanlage von *Casuarina*; Flora, Bd 92.

1901 *Koernicke :* Studien an Embryosack-Mutterzellen; Sitz. Ber. der Niederrh. Ges. für Natur- und Heilk

1897 *Mottier :* Beiträge zur Kenntniss der Kernteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen und Monokotylen; Jahrb. f. wissens. Bot.

1903 *Mottier :* The behaviour of the chromosomes in the spore mother-cells of higher plants and the homology of the pollen and embryosac mother-cells; Bot. Gaz., April.

1902 *Mürbeck :* Ueber die Embr. von *Ruppia rostellata;* Kongl. Svenska Vet.-Akad. Handlingar, Bd XXXVI.

1896 *Sargant :* The formation of the sexual nuclei in *Lilium martagon.* I. Oögenesis; An. of Bot., v. X, n. 39.

1897 *Sargant :* Id. II. Spermatogenesis; An. of Bot., v. XI, n. 42.

1901 *Schniewind-Thies :* Die Reduction der Chromosomenzahl und die ihr folgenden Kerntheilungen in den Embryosackmutterzellen der Angiospermen. Jena, Fischer.

1897 *Strasburger :* Ueber Cytoplasmastrukturen, Kern- und Zellteilung; Jahrb. f. wissens. Bot.

1900 *Strasburger :* Ueber Reductionstheilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich Jena, Fischer.

EXPLICATION DES PLANCHES.

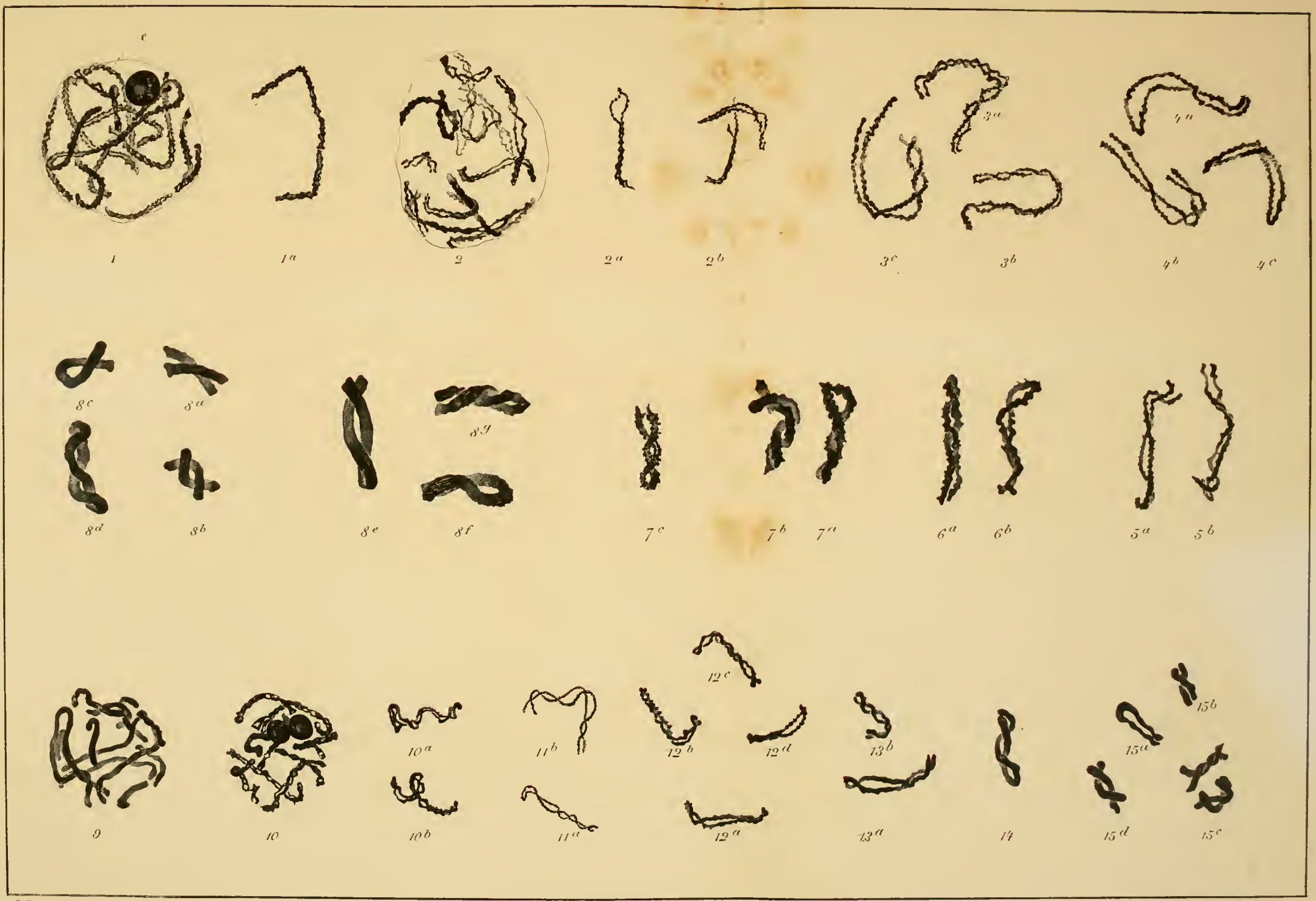
Nous nous sommes servi de l'objectif apochromatique d'ouverture 1.30 *de* Zeiss *et de l'oculaire compensateur* 12. *Tous nos dessins ont été pris à la chambre claire, le papier à dessiner étant placé au niveau de la platine du microscope.*

Lilium lancifolium (speciosum).

FIG. **1.**	Spirème. En *x*, le filament présente une fente évidente.
FIG. **1**, *a*	Un filament du spirème montrant sa structure.
FIG. **2.**	*Strepsinema* en formation.
FIG **2**, *a.*	Filament du spirème au passage vers le *Strepsinema.* Fente évidente et considérable dès le début.
FIG. **2**, *b.*	Id.
FIG. **3**, *a*, *b*, *c.*	Chromosomes entiers au sein du *Strepsinema.*
FIG. **4**, *a*, *b*, *c.*	Épaississement progressif des chromosomes.
FIG **5**, *a*, *b.*	Id
FIG. **6**, *a*, *b.*	Id
FIG. **7**, *a*, *b.*	Id.
FIG. **7**, *c.*	Début de la seconde division.
FIG. **8**, *a-g.*	Chromosomes presque achevés.

Allium fistulosum.

FIG. **9.**	Spirème.
FIG. **10.**	Clivage du spirème.
FIG. **10**, *a*, *b.*	*Strepsinema.*
FIG. **11**, *a*, *b.*	Épaississement progressif des chromosomes.
FIG. **12**, *a-d.*	Id.
FIG **13**, *a*, *b.*	Id.
FIG. **14.**	Id.
FIG. **15**, *a-d.*	Chromosomes presque achevés.



J. Bergéa ad nat. delin.

Lith. De Tollenaere frères, Brux.s

F. Ferrari lith.

La figure achromatique dans le Pellia epiphylla

PAR

Victor GRÉGOIRE & **Jules BERGHS**
Professeur de Botanique et de Cytologie — Assistant de Botanique

A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(*Mémoire déposé le* 22 *février* 1904.)

La figure achromatique dans le Pellia epiphylla

INTRODUCTION.

Dans ce travail, nous étudions chez le *Pellia epiphylla* la question de la centrosphère et *principalement* celle de l'origine et de la valeur de toute la figure achromatique. Nos recherches ont porté surtout sur les spores en segmentation à l'intérieur même du sporogone et un peu sur la première cinèse de maturation des sporocytes.

Avant de commencer la description de nos observations, nous avons à justifier ici la comparaison que nous établirons entre nos propres recherches et celles de nos devanciers.

Les questions que nous abordons ici ont été étudiées dans le *Pellia* par Farmer (95[1], 95[2], 01), Farmer et Reeves (94), Strasburger (95), Davis (01) et tout récemment par C. Chamberlain (03). Nous rappellerons plus loin les grands traits de ces diverses descriptions. Nous n'avons qu'une chose à faire remarquer ici, c'est que d'après Davis et Chamberlain les processus de la formation de la figure achromatique et par suite la constitution de cette dernière ne sont pas identiques dans toutes les cinèses qui se succèdent dans la spore en germination. D'après Davis, la première et la seconde mitoses seraient marquées par la présence de centrosphères et la formation d'asters au début de la figure achromatique. A partir de la troisième cinèse au contraire, il n'y aurait plus à observer ni centrosphères ni asters. Chamberlain place sur un même pied les trois premières cinèses. C'est à partir de la quatrième surtout que les asters et les centrosphères deviennent de moins en moins proéminents jusqu'à disparaître peut-être totalement.

Nous avons, nous aussi, constaté une différence entre les cinèses successives. Seulement, à l'inverse des deux auteurs américains, nous ne voyons pas d'asters bien formés à la première et à la seconde segmentation. Ce n'est qu'à partir de la troisième, et quelquefois plus tard, que nous trouvons des asters comparables à ceux de nos devanciers. Et ces asters, nous les observons ensuite jusqu'à la sixième et la septième division (les dernières que nous ayons rencontrées); même, nous tenons à le faire remarquer dès maintenant, les asters que nous observons dans ces cinèses sont en général plus développés et mieux constitués que ceux qu'ont figurés tous nos devanciers.

C'est pourquoi nous comparerons, avec les descriptions de Davis et de Chamberlain pour les premières cinèses, nos observations sur les cinèses ultérieures à celles-là; et c'est par la description de ces divisions que nous commencerons. Nous exposerons ensuite les processus dans les toutes premières cinèses et nous verrons la raison pour laquelle les objets étudiés par Davis et par Chamberlain et ceux que nous avons travaillés nous-mêmes présentent cette divergence [1]. Nous verrons que celle-ci, très réelle d'ailleurs, s'explique très facilement et présente même de l'importance au point de vue de l'interprétation des phénomènes.

Nos objets ont été fixés à l'aide de différentes solutions. C'est surtout le liquide de Hermann et celui de Bouin que nous avons employés. Nous avons essayé des colorations très variées : laque d'Heidenhain seule, Heidenhain et rouge Congo, safranine et Kernschwarz. Nos essais de triple coloration de Flemming n'ont pas été très heureux; nous attribuons cet insuccès à ce que nos matériaux avaient été fixés par la liqueur de Hermann.

[1] Remarquons d'ailleurs dès maintenant que Davis n'a pas vu d'asters après la seconde cinèse, tandis que Chamberlain les observe encore, à la troisième, aussi bien constitués qu'à la première.

I. Cinèses de segmentation (à partir de la troisième).

1. Cellule au repos.

Les cellules au repos montrent la structure suivante, FIG. 1 et 2 (1). Le *cytoplasme* est essentiellement formé d'un réseau assez lâche dont les filaments s'insinuent entre les enclaves de fécule. Ces filaments portent, distribuées sans aucun ordre, des granulations plus ou moins nombreuses, de dimensions variables, retenant assez vivement la coloration d'HEIDENHAIN et la safranine. Certaines de ces granulations sont simplement apparentes et ne représentent que la coupe optique de filaments continus, mais la plupart sont bien des corpuscules arrondis, qui ne constituent peut-être que des renflements locaux du réseau cytoplasmique.

Outre ce réseau cytoplasmique, très net, nous n'observons aucun autre cytoplasme figuré, présentant une structure différente. Ce que l'on remarque parfois, c'est que certaines mailles du réseau paraissent être plutôt de grandes alvéoles. Peut-être s'agit-il là de filaments du réseau enveloppés et comme enclavés dans une membrane de vacuole, ainsi que le décrivait FLEMMING en 1897.

Le *noyau*, limité par une membrane très nette, contient, outre un nucléole, un réseau chromatique présentant absolument la structure qui a été décrite par GRÉGOIRE et WYGAERTS (03) dans les noyaux méristématiques. Nous ne nous y arrêtons pas ici. Il est impossible de dire avec certitude, si, outre le réseau chromatique, il existe, au sein de l'enchylème nucléaire, un système achromatique figuré. Mais nous pouvons dire en tout cas qu'on n'en observe aucun indice, et nous verrons bientôt que le noyau en prophase avancée ne contient aucun système achromatique granuleux ou filamenteux.

Le cytoplasme des cellules au repos ne contient aucune formation qui pourrait même donner l'illusion d'une *centrosphère* ou d'un *corpuscule central*. Tous les granules du protoplasme présentent les mêmes caractères et la même irrégularité dans leur position.

(1) Toutes les figures auxquelles nous nous rapporterons dans cette première partie se trouvent sur la première planche. Celle-ci, par suite d'un oubli, ne porte pas l'indication : PLANCHE I.

2. Formation de l'ébauche achromatique.

Le premier début de la figure achromatique peut présenter quelques variantes. Le cas le plus général, auquel nous nous arrêterons d'abord, FIG. **3** à **11**, comporte deux phénomènes concomitants : l'apparition aux deux pôles du noyau de deux « *vésicules polaires* », et en même temps, en chacun de ces deux pôles, au-dessus de la vésicule, la formation d'un aster. CHAMBERLAIN affirme, contre DAVIS, qu'il a toujours vu les deux asters se former successivement. C'est le cas certainement le plus fréquent. Nous observons en effet très souvent, dans des figures vues de face, un seul aster. Néanmoins, ainsi que le remarque très justement CHAMBERLAIN, et ainsi que l'admet d'ailleurs DAVIS, il est hors de doute que les deux asters ne proviennent pas de la division d'un seul.

En effet, il est extrêmement rare de trouver deux asters qui ne soient pas diamétralement opposés l'un à l'autre, et jamais on ne trouve deux asters tout voisins l'un de l'autre. Or, la production de deux asters aux dépens d'un seul entraînerait évidemment l'existence de toutes les positions intermédiaires entre le rapprochement immédiat et l'éloignement bipolaire.

Avant de passer à examiner de plus près les vésicules et les asters, nous devons, pour préciser la portée de nos observations, résumer en quelques lignes les descriptions de nos devanciers. Nous rapporterons ces descriptions à deux chefs, la figure achromatique elle-même, la centrosphère. Nous dirons seulement plus loin les opinions qui ont été émises sur les vésicules polaires.

Opinions des auteurs.

a) *Figure achromatique.* FARMER (94 et 95) et STRASBURGER (95) ne s'arrêtent pas longuement à décrire la figure achromatique. Ils notent toutefois la présence d'asters au début de la formation du fuseau, la disparition de ces asters à la métaphase et leur réapparition à la télophase. De plus, FARMER (94) est porté à admettre une intervention de la membrane nucléaire dans l'accroissement des filaments fusoriaux.

DAVIS s'attache, au contraire, à l'étude de la figure achromatique. Il distingue pour ainsi dire trois types ayant un point de départ identique, mais une évolution différente. Ces trois types correspondent 1° aux cinèses de maturation, 2° aux deux premières cinèses de la germination de la spore, 3° aux cinèses ultérieures du gamétophyte. L'ébauche achromatique appa-

raît d'abord, dans toutes les cinèses, sous la forme d'un kinoplasme granuleux enveloppant le noyau. Dans le sporocyte, ce kinoplasme se transforme en fibres indépendantes qui s'ordonnent en fuseau. Dans les deux premières cinèses de segmentation de la spore, le kinoplasme s'organise au début en deux asters; dans les cinèses ultérieures, il forme deux « caps » aux deux pôles du noyau, sans production d'asters. Dans tous ces types, les filaments kinoplasmiques s'ordonnent et s'allongent d'un pôle vers l'autre en pénétrant dans la cavité nucléaire; les asters, dans les cas où ils se sont formés, ont disparu complétement à la métaphase, et réapparaissent plus tard. Après l'achèvement de la division, les filaments fusoriaux se transforment en un kinoplasme granuleux ramassé près du noyau.

Chamberlain n'a étudié que les cinèses somatiques. Il décrit aussi une diminution de la complexité de la figure achromatique au fur et à mesure de l'évolution ontogénétique, mais il ne crée pas, ainsi que Davis le fait, différents types. La variation, d'après lui, consiste simplement en ce que les asters diminuent graduellement d'importance. La description présente quelques divergences avec celle de Davis. Chamberlain admet, comme ce dernier, la formation du fuseau aux dépens d'un kinoplasme. D'après lui, ce kinoplasme, existant peut-être préalablement sous la forme d'areas granuleuses, s'organise soudainement en deux asters et deux demi-fuseaux. Certains filaments de ces derniers deviennent le Mantelspindel et s'attachent aux chromosomes; ceux qui restent, en s'allongeant d'un pôle à l'autre, fournissent une partie du Centralspindel, dont l'autre partie serait produite par la substance nucléolaire. Pendant ce temps, les asters disparaissent. Ils reparaissent ensuite pour quelque temps à la télophase.

Chamberlain a observé de plus des vésicules polaires; nous verrons plus loin le rôle qu'il leur fait jouer. Remarquons encore qu'il ne note pas, ainsi que Davis, une transformation télophasique du fuseau en un amas de protoplasme granuleux, et qu'il considère les rayons astériens comme des « *lines of streaming materials* ».

Davis et Chamberlain, il importe de le relever, décrivent tous deux, de même d'ailleurs que Farmer et Strasburger, des irradiations astériennes se terminant pour ainsi dire aveuglément dans la cavité cellulaire, et plongeant dans le cytoplasme général [1].

---

[1] Il faut d'ailleurs remarquer que ni Davis ni Chamberlain ne montrent de *cytoplasme figuré* en dehors de l'ébauche fusoriale.

b) *Centrosphère.* Tous les auteurs qui ont étudié le *Pellia* y ont décrit, du moins dans certaines cinèses, la présence de centrosphères aux pôles du fuseau, et tous sont d'accord pour admettre que les centrosphères, d'abord, n'y sont pas visibles avant l'établissement du fuseau, et, ensuite, ont disparu en général lorsque le fuseau est achevé. A part ces points, il existe entre les observateurs de grandes divergences.

D'abord au sujet de la *constitution* de la centrosphère :

D'après Farmer (94), ce serait simplement un corpuscule plus ou moins sphérique ne contenant pas de granule plus petit qu'on pourrait prendre pour un centriole ou corpuscule central. Strasburger la décrit au contraire et la dessine sous la forme d'une sphère plus développée que celle de Farmer, et contenant, dans plusieurs cas, un centrosome (centriole) [1]. Davis ne voit souvent qu'une formation assez mal définie : « rather vague centrosphere-like region », « une région de protoplasme dense, dont le bord peut se colorer plus vivement » ; « l'intérieur est souvent granulaire, mais généralement homogène, et il n'y a pas de centrosome ». Souvent, même quand cette différentiation centrale existe, elle est vague. Chamberlain n'a pas vu non plus de centrosome. Quant à la centrosphère, Chamberlain comprend et dessine sous ce nom les formations les plus variées, des corps sphériques ou échancrés, des amas un peu granuleux, arrondis ou très allongés ou même de simples régions centrales sans aucune forme précise.

Les auteurs diffèrent aussi entre eux au sujet de l'« *ubiquité* » de la centrosphère. Farmer et Strasburger ne font pas de restriction. Mais il n'en est pas de même de Davis et de Chamberlain. Davis la nie d'abord dans les cinèses de maturation et dans toutes les cinèses autres que les deux premières segmentations de la spore. Et même, au cours de ces deux premières cinèses, il observe que la différentiation centrale est *souvent vague* et *parfois totalement absente.* « Le centre de l'aster peut n'être qu'une région où convergent les radiations et ne possédant pas de forme spéciale. »

Chamberlain admet aussi que la centrosphère ne s'observe que durant les quelques premières cinèses. De plus, il ne l'a pas toujours observée et nous avons vu qu'il comprend sous ce nom des formations d'aspect très différent.

---

[1] Nous devons ajouter que l'éminent Professeur de Bonn ne partage certainement plus son ancienne opinion touchant les centrosphères du *Pellia* En effet, tandis que le Praktikum de 1897 citait encore cette plante comme possédant des centrosphères typiques, le Praktikum de 1902 au contraire n'en fait plus mention.

Observons maintenant de plus près, à notre tour, les vésicules polaires et les asters.

Les *vésicules polaires* paraissent, FIG. **3**, **6**, **8** *d*, **12**, remplies d'un suc achromatique assez réfringent et, en tous cas, ne contiennent aucune formation figurée, granulaire ou filamenteuse [1]. Elles sont limitées vers le cytoplasme par une sorte de membrane très nette [2] et qui, presque toujours, montre un contour très régulier, en arc de cercle, en cintre, FIG. **3**, **5**, **8**, *e*, *d*, **12** [3].

Notons qu'il n'y a pas moyen de considérer ces vésicules comme une protubérance, une boursouflure de la membrane nucléaire. Celle-ci en effet passe, très nette et très marquée, sous la vésicule, FIG. **3**.

La formation de ces vésicules, nous l'avons dit, est accompagnée d'un autre phénomène. Dès qu'elles apparaissent, elles sont surmontées chacune par un aster, FIG. **3**, **5**, **6**, **8**. Étudions de plus près ces asters, d'abord *les rayons eux-mêmes*, ensuite la *zone centrale*.

a) Les *rayons* divergent dans tous les sens; les uns s'irradient vers la membrane cellulaire, d'autres — cela est très clair, FIG. **3**, **11**, **14**, — descendent, pour ainsi dire, vers le plan équatorial en longeant les vésicules et les flancs du noyau, mais *sans pénétrer* dans aucune de ces cavités. Ils enveloppent ces deux formations. Nous réserverons aux premiers le nom d'asters, nous appellerons les autres cônes fusoriaux.

Il est tout à fait certain que ces formations ne sont pas constituées par un ensemble de filaments indépendants du réseau cytoplasmique que nous avons décrit dans la cellule au repos; mais qu'ils résultent simplement de *l'orientation de ce réseau lui-même*, autour de deux pôles situés au sommet des vésicules. Cela ressort à toute évidence, nous semble-t-il, des images que nous avons représentées, FIG. **3**, **7**, **9**, **10**, **11**, **13**, **14**.

Les FIG. **7**, **9**, **10** *a*, montrent des asters en vue polaire. On y observe nettement que les rayons se continuent dans les filaments du réseau général, qu'ils présentent les mêmes caractères que ceux-ci, qu'ils portent des granulations identiques, qu'ils sont eux-mêmes réunis encore entre eux en un réseau, en un mot, qu'ils ne sont pas autre chose que le réseau général orienté.

---

(1) Voir ce que nous allons dire à la page suivante, note 1.

(2) CHAMBERLAIN fait une remarque analogue pour le *Pellia*, ainsi que NEMEC pour le méristème d'*Allium*.

(3) Le graveur n'a pas rendu avec précision le dessin de la FIG. **3** Le contour de la vésicule y doit être plus arrondi.

D'autre part, les FIG. 3, 11, 13, montrent une ébauche fusoriale vue de face. On y observe que les rayons astériens qui enveloppent les vésicules et le noyau viennent, de part et d'autre, se continuer vers l'équateur avec le réseau cytoplasmique général, et présentent, eux aussi, les caractères que nous venons de dire (1).

La FIG. 13 a été dessinée pour montrer précisément comment le noyau et les vésicules, — nous n'en avons pas représenté les contours pour ne pas obscurcir la figure, — sont enveloppés par le treillis des filaments protoplasmiques orientés en un fuseau encore très vague et deux asters.

La FIG. 14 n'est pas moins démonstrative. Elle montre un aster en vue oblique. On y observe nettement une orientation graduelle du cytoplasme, au fur et à mesure qu'on se rapproche du pôle.

Nous insistons sur ce point, semblera-t-il ; c'est qu'en effet, il est très important et qu'il est *de toute évidence* dans nos préparations.

Il est donc certain que l'ébauche fusoriale, — nous verrons plus tard ce qui concerne le fuseau définitif, — n'est pas autre chose dans le *Pellia* que le réseau cytoplasmique de la cellule, orienté autour de deux pôles et enveloppant la vésicule polaire et le noyau encore fermés, sans que ceux-ci aient contribué à son élaboration (2).

Cette description s'écarte considérablement de celle de nos devanciers. D'abord, nous n'avons pas vu, ainsi que l'indique surtout DAVIS, que les asters fussent précédés par une accumulation, autour du noyau, d'un protoplasme granuleux. Avant la formation des asters, nous ne voyons dans la cellule que le réseau général. D'ailleurs, les fig. 22 et 24 de DAVIS représentent un ensemble de filaments plutôt qu'un amas granuleux.

Nous nous séparons aussi entièrement de nos devanciers en constatant la connexion organique entre les asters et le réseau général. D'après les autres auteurs, en effet, les filaments astériens se terminent aveuglément au sein de la cavité cellulaire (3).

CHAMBERLAIN admet l'existence, au début, de deux demi-fuseaux. Et

---

(1) Touchant les FIG. 5, 8*e*, 11, 12, il faut remarquer que les filaments astériens représentés comme paraissant traverser la cavité vésiculaire sont en réalité disposés autour de celle-ci, et l'enveloppent de toutes parts. Ils se comportent absolument *comme les filaments qui, dans la* FIG. 12, *descendent sur le flanc droit de la vésicule supérieure*. On s'en assure très aisément en faisant jouer la vis micrométrique On suit très bien la membrane vésiculaire *sous* les filaments qui l'enveloppent.

(2) Nous verrons plus tard seulement l'application de ces données à la question du kinoplasme.

(3) Nous ferons remarquer toutefois que certaines figures de CHAMBERLAIN s'accordent avec ce que nous avons observé nous-mêmes. Nous voulons parler des fig. 14 et 15 de l'auteur, qui montrent assez clairement, la première surtout, la formation de l'aster aux dépens des trabécules d'un réseau.

Davis les dessine aussi. Nous n'avons jamais vu deux cônes fusoriaux indépendants l'un de l'autre à l'équateur. Ils s'y continuent toujours l'un avec l'autre. Les fig. 3, 11 et 13, entre autres, le démontrent à toute évidence. On y voit clairement que l'ébauche achromatique *enveloppe* tout le noyau. Seulement, au début, l'orientation ne se marque qu'autour des deux pôles de la figure et les deux cônes fusoriaux sont ainsi séparés à l'équateur par une zone non encore nettement orientée. Nous croyons que ce sont de semblables aspects qui ont donné lieu à l'interprétation de Chamberlain.

Avant de continuer notre description, nous devons revenir sur le sens que nous donnons au mot aster. D'après ce que nous avons dit, il n'y a pas de distinction à faire entre deux sortes de formations *indépendantes* : d'un côté les asters, de l'autre l'ébauche du fuseau. Ce qui s'observe, c'est simplement le réseau général orienté autour de deux points situés en deux pôles du noyau. Dans cet ensemble, on peut distinguer deux sortes de *régions* : d'abord les deux régions où les filaments orientés sont dirigés vers la périphérie cellulaire, ensuite la région où ces filaments enveloppent le noyau. La première sorte de régions correspond aux asters proprement dits, la seconde à l'ébauche du fuseau. Mais si l'on veut, on peut considérer celle-ci comme la portion des asters qui descend sur les flancs du noyau.

b) Voyons maintenant ce qu'on observe dans la *zone centrale* des asters.

1. Dans beaucoup de cas, on n'y trouve ni granulations ni corpuscule d'aucune sorte, fig. 3, 4, 7. 8*a*, 11, *en bas*, et, — il faut le remarquer, — il n'y a pas lieu d'objecter que la centrosphère, réellement existante, aurait pu nous échapper; en effet, nous suivons les irradiations astériennes jusque dans le centre même de l'aster. D'ailleurs, très souvent, la convergence des rayons astériens n'est qu'imparfaite. Ces derniers s'insèrent pour ainsi dire en différents points du dôme vésiculaire, fig. 3, 7, 9, 10, 11. Il n'y a donc pas place pour une formation centrale.

2. Dans de rares cas, on croirait à première vue observer une *centrosphère*, fig. 8, *b*, *c*, *e*. Mais on se rend facilement compte que cette apparence est produite par la convergence et la confluence de plusieurs filaments de l'aster. Nous n'avons observé que deux ou trois fois une sorte d'empâtement central du genre de ceux que dessinent Davis, fig. 25, et Chamberlain, fig. 13, et qu'on pourrait définir, ainsi que s'exprime Davis, comme une « rather vague centrosphere-like region ». Il est impossible évi-

demment, étant donné ce que l'on observe dans la plupart des cas, de considérer cela comme une centrosphère véritable [1].

3. Dans un grand nombre de cas, on observe dans la région centrale de l'aster un et généralement plusieurs granules, vivement colorés en noir, FIG. **5**, **6**, **8**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**. Ils pourraient parfois donner l'illusion d'être des *corpuscules centraux*. Cependant, il n'en est rien. *Un grand nombre* de ces « granules » sont d'abord, — ainsi que l'a fait justement observer CHAMBERLAIN, — non pas des corpuscules, mais simplement la coupe optique de filaments astériens ou de deux filaments astériens accolés; on les poursuit nettement en faisant mouvoir la vis. D'autres, qui sont de vrais granules, ne sont pas autre chose que des cytomicrosomes quelconques. Cela résulte non seulement de leur parfaite identité avec les autres microsomes du cytoplasme, mais surtout de leur nombre et de leurs dimensions variables et plus encore de leur disposition. Ils ne sont en effet pas du tout, — sauf peut-être de très rares exceptions, FIG. **11**, — placés au centre des irradiations, mais bien *sur le trajet même des filaments* et on n'en observe pas seulement dans la région plus ou moins centrale, mais aussi dans toute l'étendue de l'aster, FIG. **6**, **8**, *f*, **10**.

Il est manifeste que ces granules, lorsqu'ils sont réels, — ce qui concerne la minorité d'entre eux, — ne sont que les cytomicrosomes portés par les filaments cytoplasmiques plus ou moins ramassés vers les pôles.

Nous n'observons donc dans ces cinèses du *Pellia* ni centrosphère ni corpuscule central véritables, et cette conclusion est encore confirmée par le fait que nous mentionnerons bientôt, — et qui est d'ailleurs reconnu par nos devanciers, — par le fait, disons-nous, que, à la métaphase, dès que le fuseau est achevé, il n'y a plus aux pôles aucune formation quelconque.

Nous ne comparerons pas ici nos observations à celles de nos devanciers. Nous le ferons dans un chapitre ultérieur. Notons seulement ici que nous n'avons nullement l'intention de nier les faits constatés par les observateurs du *Pellia* touchant la « centrosphère ». Nous aurons seulement à discuter l'interprétation de ces faits, c'est-à-dire à discuter la valeur de la « centrosphère » lorsqu'elle existe. De plus, répétons encore que nous serons en droit de comparer les observations que nous venons de rapporter avec celles de nos devanciers sur les premières cinèses. En effet, DAVIS et CHAMBERLAIN considèrent comme liées l'une à l'autre la formation d'un aster et la présence d'une centrosphère. Or, nous l'avons déjà dit, dans la cinèse que

[1] Nous reviendrons plus tard sur cette question.

nous venons d'étudier, les asters sont mieux développés encore que dans les cinèses observées par DAVIS et CHAMBERLAIN.

Nous avons décrit jusqu'ici les phénomènes du début de la figure achromatique tels qu'ils se déroulent dans les cas les plus complets, comportant la formation de deux asters bien définis et de deux vésicules polaires. L'ébauche achromatique ne présente pas toujours cette constitution. Elle est souvent plus réduite, et nous avons observé des dispositions qui ressemblent à celles que DAVIS et CHAMBERLAIN ont décrites pour les cinèses plus avancées, c'est-à-dire des ébauches achromatiques ne comportant pas d'asters.

D'abord, les *vésicules polaires* ne se forment pas toujours. Certaines figures n'en montrent qu'une. D'autres n'en montrent aucune. Dans ces cas, l'aster est directement implanté sur la membrane nucléaire, mais on remarque souvent alors ou bien que le noyau est assez allongé dans le sens de l'axe de la figure, ou bien même qu'il a produit une sorte de protubérance sur laquelle est inséré l'aster [1].

Ensuite le *développement de l'aster* varie beaucoup. Il peut ne comprendre qu'un petit nombre de filaments, ne contenir dans sa partie polaire que deux ou trois filaments, ou même être réduit simplement aux filaments qui enveloppent le noyau. Ce sont là les cas que DAVIS et CHAMBERLAIN ont retrouvés dans les divisions ultérieures du gamétophyte. Faisons remarquer dès maintenant que cette diminution dans le développement de l'aster est très compréhensible. Il est évident, en effet, qu'ici comme ailleurs la quantité de réseau général va s'affaiblissant au fur et à mesure que s'avance l'âge des cellules [2]. Il est donc naturel que l'ébauche achromatique, résultant de l'orientation du réseau général, se restreigne de plus en plus.

3. Évolution ultérieure de l'ébauche fusoriale.

Nous dirons d'abord comment est constitué le fuseau totalement achevé, et nous verrons ensuite par quelles transformations graduelles l'ébauche que nous venons de décrire devient la figure achromatique définitive.

Les FIG. **19** et **20** montrent que le fuseau achevé est assez étroit et assez dense, constitué de filaments très serrés. Il se termine vers les deux pôles en un cône très aigu. Aux extrémités polaires, plus aucune trace ni

(1) Les fig. 23 et 24 de DAVIS, ainsi que les fig. 11 et 16 de CHAMBERLAIN, montrent aussi cette particularité.

(2) Il faut remarquer que CHAMBERLAIN a observé des asters dans les cellules jeunes du point végétatif.

de granulations ni d'aster régulier. En outre, le fuseau semble plonger, pour ainsi dire, librement dans l'enchylème cytoplasmique; en réalité, il est rattaché au reste du cytoplasme par quelques trabécules. Ajoutons enfin que le fuseau, à ce moment, est plus long que ne l'était l'ébauche primordiale [1].

Tel étant l'état définitif du fuseau, voici, d'après nous, — nous ne faisons maintenant qu'énoncer une interprétation, nous la prouverons dans un instant, — comment l'ébauche primordiale se transforme.

Les filaments qui constituent les asters proprement dits (voir p. 201), c'est-à-dire les filaments autres que ceux qui enveloppent immédiatement les vésicules polaires et le noyau, se rabattent graduellement et presque tous sur les flancs du noyau lui-même, en pivotant pour ainsi dire autour du centre de chacun des asters. Ces filaments décrivent ainsi une rotation d'autant plus considérable qu'ils divergeaient davantage dans le cytoplasme et certains d'entre eux décrivent un angle voisin de 180°. Il résulte de ce pivotement que *tous* les filaments destinés à former la figure sont maintenant disposés *entre* les deux pôles et qu'il n'y a plus d'irradiations astériennes. En même temps, toute l'ébauche achromatique, — ou mieux, maintenant, l'*ébauche fusoriale*, — subit une concentration, un ramassement de ses filaments vers son axe longitudinal, et un étirement dans le sens de cet axe, étirement qui aboutit à tendre graduellement tous les filaments.

Bientôt, tous les filaments fusoriaux ont cessé d'être disposés, comme au début, lâchement, en une figure ellipsoïdale, mais en sont arrivés à constituer un véritable *fuseau*, assez étroit, tendu, terminé en deux cônes aigus et dépourvu de toute irradiation aux deux pôles. C'est pendant la dernière étape de la genèse du fuseau que celui-ci envahit, *latéralement*, l'espace du noyau et des vésicules polaires. Ni le noyau ni les vésicules ne contribuent en rien à la formation de la figure achromatique qui est tout entière d'origine cytoplasmique.

Telle est la façon dont nous concevons l'évolution de l'ébauche chromatique. Nous allons maintenant montrer que c'est bien cette interprétation qui ressort de nos figures.

Nous prions le lecteur d'observer la série graduelle des FIG. **11** et **13**, **12** et **15**, **16**, **17**, **18**, **19**, **20**. Graduelle, disons-nous : il est, en effet, semble-t-il, tout à fait évident que ces diverses dispositions de la figure achromatique forment une chaîne ininterrompue, et réunissent par un lien nécessaire la

[1] Nous parlerons plus tard des « faisceaux rétracteurs ».

première étape, — le fuseau primordial, — à la dernière, — le fuseau achevé. Il n'y a pas moyen de les grouper autrement et chacune d'elles paraît la transition *indispensable* entre celle qui la précède et celle qui la suit.

Dans les FIG. **11** et **13**, les asters sont encore bien marqués : les fibres interpolaires sont lâchement orientées. Il n'en est déjà plus de même dans les FIG. **12** et **15**. Les asters ne sont plus complets. On n'observe plus de filaments dans la partie polaire de l'aire astérienne, mais uniquement dans sa partie équatoriale. En revanche, les filaments bipolaires, ceux qui descendent sur les flancs du noyau, sont plus nombreux et plus serrés qu'au stade précédent.

Nous avons plus haut attribué ce phénomène de la « *disparition* » des asters à un pivotement, à un rabattement des filaments astériens sur les flancs du noyau. Avant de nous arrêter à montrer que tel est bien le mécanisme qui est ici en jeu, nous devons dire quelques mots du stade ultérieur reproduit par la FIG. **16**. Dans cette figure, la disparition de l'aster est plus avancée : il n'y a presque plus de filaments divergeant dans la cellule. Tout l'appareil achromatique est disposé autour du noyau. Et, encore une fois, les filaments bipolaires sont plus denses et plus nombreux qu'à l'étape antérieure.

Arrêtons-nous un instant à cette série de figures. Elle nous semble montrer nettement le rabattement de tous les filaments astériens sur les flancs du noyau, et leur concentration dans un sens parallèle à l'axe du fuseau futur.

En effet, d'abord, du fait que, au fur et à mesure de « la disparition » de l'aster, on voit augmenter le nombre des fibres bipolaires sur les flancs du noyau, il résulte qu'il ne peut s'agir ici ni d'une simple disparition à la vue, — par suite d'un changement de réfrangibilité ou de colorabilité, — ni d'une disparition réelle par dissolution. La coïncidence dont nous parlons suppose évidemment que, d'une façon ou d'une autre, les filaments astériens servent à l'augmentation en nombre des fibres bipolaires.

FARMER, STRASBURGER, DAVIS n'expliquent pas cette « disparition » de l'aster. D'après CHAMBERLAIN, les fibres astériennes perdraient leur colorabilité, d'abord dans leurs parties périphériques et ensuite dans toute leur longueur. Nous n'avons pas observé une semblable décoloration centripète graduelle des rayons astériens et, pour la raison que nous venons de dire, nous admettons que, si on ne voit plus d'irradiations aux pôles du fuseau métaphasique, ce n'est pas parce qu'elles seraient devenues invisibles, mais parce que réellement elles n'y sont plus, elles ont servi à édifier le vrai fu-

seau. — Ce que nous allons dire va d'ailleurs appuyer davantage encore la même explication.

Seulement, on peut se représenter de deux façons cette intervention des rayons astériens dans l'augmentation des fibres bipolaires : — ou bien en ce sens que la *substance* des irradiations servirait à édifier de nouvelles fibres, — ou bien dans la manière que nous adoptons, c'est-à-dire par le moyen d'un rabattement des filaments astériens sur les flancs du noyau.

C'est bien cette seconde hypothèse qui semble la vraie.

D'abord il suffit, nous semble-t-il, de suivre graduellement la série des FIG. **11** et **13**, **12**, **15**, **16**, **17**, pour assister, en quelque sorte, au rabattement, à la concentration des filaments astériens sur les flancs du noyau. Cette série nous semble montrer nettement comment les filaments qui divergeaient à partir des pôles sont, pas à pas, ramenés vers l'axe du futur fuseau.

De plus, nous verrons la figure subir, à la télophase, un mouvement de distension et nous verrons que ce mouvement explique facilement la « réapparition » de l'aster à la fin de la cinèse. *Rabattement* de l'aster par suite de la *concentration prophasique* de la figure, *dégagement* des filaments astériens par suite de la *distension télophasique* du fuseau : ces deux explications naturelles se corroborent l'une l'autre pour faire une hypothèse tout à fait certaine.

Nous pouvons faire ressortir d'une autre façon la portée de cette série de stades. Considérons les FIG. **11**, **13**, **14**. Nous pouvons dans ces asters distinguer deux régions : d'abord tous les filaments qui sont situés sous le pôle, c'est-à-dire « sous le cercle polaire », ensuite ceux qui sont situés au-dessus du pôle. Or, il est tout à fait évident que les filaments de la première région prennent part au mouvement de concentration axiale qui se manifeste dans la suite, ainsi que nous allons le voir, et qu'ils se rabattent sur les flancs du noyau. Et cela étant, il semble non moins certain que les quelques filaments situés au-dessus du pôle doivent aussi se comporter de la même façon.

Continuons l'examen de nos figures.

Jusqu'au moment où nous sommes parvenus, la membrane nucléaire est encore visible. Le fuseau en formation *enveloppe* le noyau ; il n'y a pas encore pénétré. Pour ce qui est des vésicules polaires, on ne se rend plus très bien compte si les filaments les ont déjà envahies. Au stade de la FIG. **12** et **15** [1], elles sont encore nettement enveloppées par l'ébauche fusoriale.

[1] Dans la FIG. **15**, la vésicule est voilée par les filaments achromatiques qui passent au-dessus d'elle, mais on la reconnaît facilement en abaissant la vis micrométrique.

Au moment de la FIG. **16**, on distingue encore la vésicule d'en haut, mais on ne reconnaît pas celle du pôle inférieur.

Ajoutons encore que, jusqu'à ce stade, l'allongement du fuseau [1] s'est fait assez peu sentir. C'est surtout à partir du stade où nous arrivons qu'il va se manifester.

Les FIG. **17** et **18** marquent la dernière étape avant l'achèvement de la figure définitive. On ne distingue plus les membranes ni des vésicules polaires ni du noyau. Le fuseau a envahi l'aire nucléaire. Il présente un contour oval et l'aspect d'un petit tonneau : les pôles sont aplatis ou plutôt arrondis. Ces deux figures, — DAVIS en dessine une semblable, fig. 31, ainsi que CHAMBERLAIN, fig. 26, présentent un grand intérêt. Elles mettent, pour ainsi dire, sous les yeux la concentration et le resserrement de plus en plus accentué de l'ébauche fusoriale, amenant celle-ci à envahir l'espace nucléaire et elles constituent la transition nécessaire entre l'organisation de la FIG. **16** et celle des FIG. **19** et **20**.

La forme ovale résulte évidemment du fait que l'ébauche achromatique a été moulée aux stades précédents sur le contour du noyau coiffé des deux vésicules.

Enfin, les FIG. **19** et **20** s'expliquent naturellement et nécessairement par un étirement du fuseau de la FIG. **18** [2], provoquant un resserrement encore plus étroit des fibres fusoriales et une terminaison du fuseau en deux cônes aigus.

Jusqu'ici donc : pivotement des filaments astériens autour des pôles et leur rabattement sur les flancs du noyau, ramassement et concentration de plus en plus accentuée de la figure qui finit par envahir les aires vésiculaires et l'aire nucléaire, étirement de la figure ovale, qui prend une forme très aiguë dans ses deux cônes polaires.

Tout ce que nous venons de dire concerne l'*ébauche cytoplasmique*. Nous devons maintenant nous demander si le noyau ou les vésicules polaires apportent leur contribution à l'édification du fuseau.

a) *Le noyau*. Se forme-t-il une portion du fuseau *à l'intérieur du noyau?* Nous ferons d'abord remarquer qu'au moment où les chromo-

[1] Nous disons allongement du fuseau. Nous pensons, en effet, que les fibres mêmes ne s'allongent pas, mais qu'elles se raidissent, et qu'il en résulte l'allongement du *fuseau*.

[2] La FIG. **18** montre encore quelques filaments polaires Il est clair que ce n'est qu'un vestige des anciens asters. Le graveur les a d'ailleurs beaucoup trop accentués.

somes ont déjà atteint leur forme définitive et où l'édification du fuseau cytoplasmique est déjà très avancée, — stade correspondant aux FIG. **12** et **15** — le noyau encore fermé ne contient aucun appareil filamenteux achromatique. On n'y observe, outre les chromosomes, que le nucléole et quelques granulations. Si donc le noyau fournissait, dans son intérieur, une portion centrale du fuseau, ce ne pourrait être que par suite des transformations du nucléole, dans le sens de l'hypothèse bien connue de STRASBURGER.

Et de fait, CHAMBERLAIN a décrit une participation du nucléole à la formation du fuseau. D'après l'auteur, le nucléole, après avoir fourni une quantité notable de substance aux chromosomes, se fragmente en granulations qui remplissent la cavité nucléaire et aux dépens desquelles s'édifierait rapidement la portion centrale du fuseau.

Dans les cinèses que nous étudions maintenant, nous pensons que le nucléole ne fournit pas une portion intranucléaire au fuseau (hypothèse admise d'ailleurs par STRASBURGER pour beaucoup de cas, 00, p. 115). En effet, nous n'observons pas cette granulisation du nucléole. Celui-ci demeure vivement coloré jusqu'au moment où l'ébauche cytoplasmique envahit l'aire nucléaire, FIG. **16**, et jusqu'à ce moment aussi le noyau est dépourvu d'appareil filamentaire-granuleux qui aurait pu provenir du nucléole. Après cela, nous ne suivons plus la trace de ce dernier. Si donc il fournissait une partie intranucléaire du fuseau, il faudrait qu'il se granulise et que les granulations se disposent en filaments et que ceux-ci s'orientent, tout cela durant le peu de temps qui sépare l'étape de la FIG. **16** de celle des FIG. **17** et **18**. De plus, il suffit de comparer ces figures pour constater que le fuseau des FIG. **17** et **18** ne contient pas plus de filaments que l'ébauche, entièrement cytoplasmique, de la FIG. **16**.

Nous pensons donc que le fuseau est entièrement extranucléaire, du moins dans les cinèses que nous étudions maintenant. Nous faisons cette restriction, car nous aurons à observer quelques dispositions spéciales dans la formation du fuseau des toutes premières cinèses. Et c'est pourquoi nous attendrons jusque là pour discuter l'opinion de CHAMBERLAIN, qui se rapporte, elle aussi, aux deux premières divisions et qui, par conséquent, n'est pas contredite par ce que nous venons d'exposer touchant les cinèses que nous étudions actuellement.

La *membrane* du noyau ne fournit-elle rien au fuseau, ainsi que cela a été décrit ou admis dans plusieurs cas, entre autres par FARMER (95) pour le *Pellia?* Nous ne pouvons trancher la question pour cette plante :

il est très difficile, en effet, d'y suivre la disparition de la membrane nucléaire.

b) Les *vésicules polaires* prennent-elles part à la formation du fuseau?

On a souvent décrit comme début de la figure achromatique la formation de vésicules ou calottes polaires. Il faut toutefois se garder de mettre sur un même pied toutes les descriptions de vésicules, et il existe une certaine confusion dans la nomenclature.

STRASBURGER (00) distingue, aux pôles de la figure en ébauche, deux sortes de formations. D'abord, un ensemble de filaments kinoplasmiques, qu'il appelle « Kappe »; ensuite, entre cet amas et la membrane du noyau, une sorte de vacuole, « Kappenraum », remplie d'un liquide hyalin analogue au suc nucléaire et repoussant l'ébauche kinoplasmique. Or, il semble, d'après la description de l'auteur, que ce liquide n'aurait aucun rôle à jouer dans l'édification du fuseau. STRASBURGER décrit, en effet, une pénétration des filaments à l'intérieur des vésicules, semblable à leur pénétration à l'intérieur du noyau [1].

Toutefois, il n'en va pas ainsi d'après d'autres auteurs. La plupart font jouer à la portion hyaline un rôle important. NEMEC (99) décrit au pôle une « hyaline Gebilde » correspondant certainement à la « Kappenraum » de STRASBURGER [2] et fermée par une sorte de membrane. Seulement cette calotte « donne naissance » à des filaments destinés à devenir ceux du centre, le fuseau central, et ceux de la périphérie, le « Mantelspindel »; le protoplasme granuleux qui coiffe ces calottes sert à produire les filaments qui divergent vers la « Hautschicht » périphérique. Pour l'auteur, par conséquent, cette partie hyaline constitue une accumulation de matière fusoriale. Il faut ajouter que NEMEC considère comme probable que les filaments du « Mantelspindel » proviennent de la « membrane vésiculaire ».

Une opinion semblable avait d'ailleurs été proposée déjà par ROSEN (95). Cet auteur décrit, en effet, dans le méristème de racine de Jacinthe, une accumulation polaire d'un plasma *hyalin*, homogène, constituant, dit-il, le kinoplasme de STRASBURGER. Ce plasma hyalin se transforme en rangées de granules, qui s'orientent pour former les deux cônes polaires du fuseau. HOF (98) décrit aussi la formation de « Pol-Kappen », semblables à celles

---

(1) Toutefois dans son Lehrbuch (04), l'auteur écrit : « Die Polkappen sind mit homogenen Inhalt erfüllt, in welchen sich dann zarte Fasern differenzieren. »

(2) L'auteur le fait lui-même remarquer.

de Rosen et de Nemec, et dans lesquelles il se forme des filaments qui constituent les cônes polaires du fuseau.

Ces trois observateurs, à l'inverse de Strasburger, considèrent donc la substance hyaline comme une réserve de kinoplasme. Plus récemment, Hottes (01) se rapproche de Strasburger en décrivant des « Kappen » de kinoplasme filamenteux entourant un « Kegel » rempli d'un liquide (Saft).

Les descriptions de Schaffner (98) et de Fulmer (98) sont assez incomplètes. Schaffner distingue les premiers filaments fusoriaux d'avec une vésicule claire qui les « sépare du noyau ». D'autre part, il mentionne deux « proéminences » en forme de dôme comme « Anlage » du fuseau. L'auteur ne dit rien des rapports entre le fuseau et la vésicule claire.

Fulmer se contente de dire que le fuseau commence par deux proéminences « dome-shaped ».

En ce qui concerne spécialement le *Pellia*, Strasburger, Farmer et Reeves, Farmer, ne mentionnent pas les vésicules polaires. Il n'y a pas de doute cependant que certaines de leurs figures les représentent. Chamberlain, au contraire, les a nettement observées. Seulement, le sens des dénominations change chez cet auteur. Il distingue la sorte de membrane qui limite la vésicule, et à laquelle il donne le nom de « cap » et d'autre part le liquide contenu entre cette « cap » et la membrane nucléaire.

La « cap » elle-même se montre au début, en coupe transversale, sous la forme d'un anneau. Elle aurait donc une structure continue; mais plus tard elle se résout en un grand nombre de fibres. Les rayons astériens, d'après l'auteur, enveloppent les caps sans y pénétrer. Les caps donnent au fuseau débutant des extrémités arrondies, mais en général, à la métaphase ou au début de l'anaphase, comme nous venons de le dire, elles se résolvent en fibres et le fuseau perd son contour arrondi aux extrémités. Le liquide ne contient d'abord ni granules ni filaments, mais dans la suite, on voit que l'espace vésiculaire est occupé par des fibres très denses.

D'après cette description, on voit que l'auteur ne tranche pas la question de savoir si le liquide vésiculaire contribue à la formation du fuseau; mais il admet que la membrane vésiculaire se résout en un groupe de fibres. La destination de cette formation polaire, telle que la conçoit Chamberlain, correspond donc assez bien à l'opinion de Nemec.

Davis, de son côté, dans les cinèses avancées, dessine sous le nom de « cap » un amas de kinoplasme granuleux aux pôles du noyau. L'auteur compare cette formation avec celle qu'à décrite Nemec: on voit clairement,

d'après ce qui précède, que ce rapprochement est fautif. DAVIS, en effet, n'a observé aucune « hyaline Gebilde ».

De la comparaison entre les différentes figures des auteurs, et d'autre part, de leur rapprochement avec nos dessins, il résulte que, dans le *Pellia* et dans tous les objets que nous venons de passer en revue, on observe au début du fuseau une formation identique, deux vésicules hyalines coiffant le noyau et limitées par une sorte de membrane. Seulement, deux choses sont tout à fait claires dans le *Pellia* : c'est d'abord que le contenu vésiculaire ne fournit en aucune façon des matériaux pour la figure achromatique.

En effet, jusqu'au moment où le fuseau est presque achevé, on voit nettement les vésicules *claires et homogènes*, *enveloppées* par les filaments fusoriaux. — Cela suppose évidemment qu'on observe la vésicule en coupe optique radiale. Ce qui a pu tromper les auteurs, ce sont les aspects semblables à ceux de la FIG. **11**, où, en installant le microscope à une certaine mise au point, on voit, *se projetant* sur les vésicules, les filaments fusoriaux qui passent au-dessus d'elles [1]. — *L'on ne cesse de distinguer les vésicules homogènes que lorsqu'elles ont été envahies latéralement par le fuseau cytoplasmique.*

Nous rappellerons d'ailleurs que les vésicules polaires n'existent pas toujours, et que parfois elles n'existent qu'à un pôle. Cette variété ne semble guère conciliable avec la conception d'une substance kinoplasmique normalement destinée à faire le fuseau, destinée même, dans l'hypothèse de NEMEC, à former tout le fuseau bipolaire.

Une seconde chose est encore claire. C'est que les filaments de l'ébauche fusoriale ne pénètrent pas d'arrière en avant à l'intérieur des vésicules. Il est évident que les filaments enveloppent, dès le début, les deux vésicules aussi bien que le noyau, et que c'est sur les côtés, tangentiellement, pour ainsi dire, que le fuseau envahit l'aire nucléaire en même temps que les aires vésiculaires, FIG. **11** à **16**.

Il n'y a guère que ROSEN qui montre des stades que l'on pourrait prendre pour une différentiation d'abord granulaire, puis filamenteuse, au sein du liquide hyalin. Mais dans le *Pellia* nous ne voyons jamais rien de semblable et nous pensons, d'après ce que nous avons nous-même déjà observé dans l'*Allium*, que là aussi les filaments qui constituent les cônes polaires sont d'abord extérieurs à la vésicule et plus tard envahissent celle-ci.

---

[1] Nous rappelons que, dans la FIG. **11**, les filaments fusoriaux qui recouvrent les vésicules ne s'arrêtent pas au niveau de la membrane nucléaire mais enveloppent celle-ci, comme le montrent d'ailleurs les filaments latéraux de la figure.

Nous pensons que les auteurs qui décrivent la formation de filaments à l'intérieur de la vésicule ont été trompés surtout par les aspects que présentent les vésicules elles-mêmes, lorsque les filaments y ont pénétré déjà en partie. On trouve, en effet, en ce moment des aspects très clairs de filaments apparaissant comme enrobés dans une substance hyaline. Néanmoins on se rend encore compte, même alors, que ce sont les filaments de l'ébauche primitive qui ont pénétré dans la vésicule. En effet, ces mêmes filaments que l'on voit dans la vésicule, on les poursuit tout le long des flancs du noyau.

Quant au point de savoir si notre membrane vésiculaire, la « cap » de Chamberlain, se résout, comme le prétendent cet auteur et Nemec, en un groupe de fibres, nous n'en savons rien. En effet, au moment où les vésicules polaires disparaissent, le fuseau rabattu les couvre entièrement et on ne peut suivre le sort de ces membranes. Néanmoins, nous ferons remarquer que les figures que Chamberlain considère comme représentant cette transformation des « caps » ont une tout autre signification. Elles représentent simplement le stade de notre fig. **15**, où l'ébauche fusoriale est entièrement rabattue autour de la vésicule, celle-ci possédant encore son contour et occasionnant par là la forme arrondie des pôles du fuseau.

Les filaments de la fig. 4 de Chamberlain ne proviennent donc pas de la « cap » transformée, mais des asters rabattus. Si d'ailleurs dans cette figure, les filaments représentaient les dérivés filamenteux de la „ cap “, on se demande où se trouveraient les vrais filaments fusoriaux, qui, d'après Chamberlain lui-même, *enveloppaient* les « caps » au début.

Les *vésicules polaires*, — on comprend maintenant pourquoi nous avons choisi ce nom ; il est destiné à indiquer que ces formations ne sont que des sortes de vacuoles contenant un liquide hyalin, — les vésicules polaires ne sont donc pas une réserve de matière fusoriale. Quelle est alors leur signification? Comment se produisent-elles? Chamberlain considère la « cap », c'est-à-dire l'espèce de membrane de la vésicule, comme produite par le soulèvement d'une partie de la « Hautschicht » par laquelle le cytoplasme serait limité vis-à-vis de la membrane nucléaire. C'est la seule donnée qu'on trouve chez les auteurs sur le mode de formation de la vésicule. Nous ne pensons pas que telle soit la valeur de la membrane vésiculaire. En effet, le protoplasme n'est pas limité vis-à-vis de la *membrane* nucléaire par une « Hautschicht ». Mais la membrane nucléaire elle-même est une « Haut-

schicht » protoplasmique. C'est vis-à-vis du *liquide* nucléaire que le protoplasme est limité par une « Hautschicht » [1].

Nous considérons, nous aussi, la membrane vésiculaire, la « cap » de CHAMBERLAIN, comme une « Hautschicht », mais de production récente et non pas préexistante dans le cytoplasme avant la formation de la vésicule.

Pour nous, la vésicule polaire est constituée simplement par de l'enchylème nucléaire sorti du noyau et provoquant dans le protoplasme la formation d'une vacuole limitée d'un côté par la membrane nucléaire sur laquelle elle est moulée et de l'autre par une « Hautschicht » qui se forme dans le cytoplasme qui l'entoure.

Considérer ce liquide comme un liquide d'origine *cytoplasmique* attiré en ce moment aux deux pôles du noyau, il semble qu'on ne peut le faire. En effet, on ne voit pas pourquoi ce liquide cytoplasmique ne formerait pas tout simplement une vacuole sphérique, pourquoi il se disposerait de façon à *coiffer* le noyau. Cette disposition est au contraire naturelle et inévitable, si le liquide s'échappe réellement par les deux pôles du noyau.

Cette sortie d'enchylème nucléaire serait provoquée par la tendance à l'allongement qui se manifeste certainement dans le noyau au moment de la cinèse, ce qui amène, ainsi que le note FISCHER (99, p. 248), une pression du suc nucléaire contre les parois polaires de la membrane du noyau. Et cela serait en concordance parfaite avec plusieurs observations : avec le fait d'abord que, lorsqu'il n'y a pas de vésicules, le noyau est visiblement allongé, et parfois même pousse une protubérance vers l'aster (CHAMBERLAIN, fig. 11). Cela concorderait encore avec le fait que l'on n'observe, en tous cas, ces vésicules que dans les cinèses à fuseau bipolaire dès le début, et jamais dans les ébauches achromatiques pluripolaires et dans lesquelles, par conséquent, la pression interne du noyau est en quelque sorte diffuse sur tout le pourtour de la membrane. Cet ensemble de considérations nous semble établir solidement l'explication que nous proposons de la formation des vésicules polaires.

Il nous reste à toucher quelques points pour compléter ou préciser la description précédente.

On aura remarqué que nous n'avons pas mentionné un accroissement terminal des filaments de l'ébauche primitive, — accroissement décrit par la plupart des auteurs. C'est qu'en effet les filaments ne sont que des tra-

[1] Cf. entre autres STRASBURGER (88), GRÉGOIRE et WYGAERTS (03), LAWSON (03), WAGER (04).

bécules du réseau cytoplasmique orienté, et ils sont dès le début en continuité d'un pôle à l'autre. Ce qui progresse à partir du pôle, — ainsi que nous l'avons vu, — ce ne sont pas les *filaments* eux-mêmes, mais bien l'*orientation* des filaments.

De même, l'envahissement de l'aire nucléaire par le fuseau ne se fait pas, ainsi que cela est généralement admis, par des ouvertures polaires. Le fuseau, comme nous l'avons dit, enveloppe, enserre complétement le noyau et les vésicules polaires, et c'est en les enserrant de plus en plus qu'il finit par les envahir. C'est donc latéralement que se fait sa pénétration dans l'aire nucléaire. Nous tenons à répéter que ces deux points sont d'une *évidence éclatante* dans nos préparations. Allen (03) est arrivé d'ailleurs à une conclusion semblable dans ses belles recherches sur le fuseau chez le *Larix*, p. 296.

Beaucoup d'auteurs décrivent aussi au cours de la formation du fuseau un accroissement en nombre des fibres bipolaires, soit aux dépens d'un kinoplasme cytoplasmique, soit aux dépens de matière nucléolaire diffusant du noyau dans le cytoplasme. Dans nos préparations, nous pensons que le rabattement des filaments astériens suffit à expliquer l'augmentation en nombre des fibres bipolaires.

Pour ce qui concerne spécialement le nucléole, nous le retrouvons, avons-nous dit, sans changement apparent jusqu'au moment de la pénétration du fuseau à l'intérieur du noyau. Mais nous devons ajouter que, n'ayant pas réussi à appliquer la triple coloration, nous n'avons pas pu contrôler les données de Strasburger au sujet des variations de colorabilité du nucléole en rapport avec l'élaboration graduelle de la figure achromatique (Strasburger, 00).

Nous pouvons donc résumer de la façon suivante l'histoire de la formation du fuseau. Il se produit dans le *réseau cytoplasmique* une orientation des filaments vers deux points situés en deux pôles opposés du noyau et en même temps il se forme en ces deux pôles du noyau, sous les centres d'orientation, une *vésicule polaire*. Cette orientation du cytoplasme produit un amphiaster mal ordonné, divergeant de deux pôles dans toutes les directions et enveloppant les vésicules et le noyau. Il n'y a au centre de l'aster ni vraie centrosphère ni vrai corpuscule central. Les granules qu'on y trouve parfois sont des cytomicrosomes quelconques ou bien la coupe optique de filaments.

Cette ébauche fusoriale ramasse bientôt, sur les flancs du noyau, tous les filaments qui la constituent, même ceux des asters, de façon à devenir une figure en forme de tonneau; en même temps, elle s'étire et raidit les filaments qui la constituent; le fuseau, terminé en deux cônes aigus, se trouve constitué. C'est durant la toute dernière étape que la membrane du noyau et celle des vésicules disparaissent.

Le fuseau ne comprend aucune partie nucléaire ou vésiculaire. Les vésicules ne sont que du liquide nucléaire déversé dans le protoplasme.

4. Le fuseau après la métaphase.

L'histoire du fuseau à partir du début de l'anaphase n'est pas moins instructive que dans les stades précédents.

C'est ici d'abord que nous devons nous demander s'il existe des « Zugfasern ».

On sait que cette hypothèse des « Zugfasern » a été proposée dans deux sens différents. La plupart des auteurs considèrent ces faisceaux de filaments comme doués de contractilité et entraînant vers les pôles, en se contractant, les chromosomes-filles. STRASBURGER (00), au contraire, n'admet pas que le raccourcissement des fibres qui provoquerait l'ascension polaire des bâtonnets repose sur une contraction : il suppose plutôt qu'il provient d'une perte de substance de la part des « Zugfasern ».

Dans le *Pellia*, d'abord, l'hypothèse de la contraction semble devoir être écartée. Non seulement on n'observe pas un épaississement des fibres fusoriales dans leur partie polaire, — argument de STRASBURGER, 00, — mais de plus, le tassement polaire des chromosomes se produit non pas à quelque distance de la pointe du fuseau, mais tout à fait au pôle, à l'extrémité même du fuseau [1]. Dans l'hypothèse de la contraction, il faudrait donc admettre, ainsi que le fait remarquer R. HERTWIG (98, p. 62), une réduction des fibres à un minimum invraisemblable.

Cette raison ne milite pas contre l'hypothèse de STRASBURGER, d'après laquelle une réduction extrême des « Zugfasern » pourrait se comprendre. Mais nous ne trouvons dans le *Pellia* aucun appui *décisif* pour cette hypothèse. Il semble souvent que, durant l'anaphase, les cônes polaires du

[1] Cette disposition a été observée déjà par WILSON (96) et HERTWIG (98) et interprétée par ces auteurs dans un sens défavorable à l'hypothèse de la contraction.

fuseau sont plus denses que la zone équatoriale qui sépare les deux groupes de bâtonnets-filles.

Toutefois cette différence de densité entre la zone équatoriale et les cônes polaires ne suppose pas nécessairement la présence dans ceux-ci d'un nombre plus grand de filaments, — ainsi que l'admet l'hypothèse des « Zugfasern », — mais pourrait provenir simplement d'un plus grand ramassement des filaments eux-mêmes, dû à leur convergence vers un point. Et cela d'autant plus que le contraste entre les portions polaires du fuseau et sa portion équatoriale est encore accentué par le fait que cette dernière partie commence bientôt à subir le mouvement de distension que nous observerons dans un instant.

Décrivons maintenant rapidement les modifications télophasiques du fuseau. Nous reviendrons ensuite sur quelques points plus importants.

Pendant l'anaphase, FIG. **20**, le fuseau subit encore un allongement assez notable, les extrémités polaires s'effilent de plus en plus. Lorsque les bâtonnets sont parvenus aux pôles et se sont tassés les uns contre les autres, FIG. **21**, on voit des irradiations réapparaître autour de l'amas chromosomique. En même temps, le fuseau a subi une sorte de détente et d'expansion latérale; les filaments ne sont plus *tendus* d'un pôle à l'autre, ni très rapprochés les uns des autres comme au stade précédent; tout en demeurant continus, ils se dégagent dans une direction perpendiculaire à l'axe de la figure. L'ensemble du fuseau est ainsi beaucoup plus large qu'auparavant. Ce mouvement de distension des filaments se poursuit de plus en plus et ils envahissent graduellement toute l'aire cellulaire, FIG. **22**, **23**. On reconnaît facilement la disposition de ces filaments en un réseau. C'est pendant ce temps que se produit la plaque cellulaire. A la fin, lorsque les deux cellules-filles sont séparées, les filaments du fuseau sont répandus dans presque toute la cavité de chacune d'elles, *où ils constituent le réseau cytoplasmique général*, FIG. **24**.

Telles sont, dans leurs grandes lignes, les transformations télophasiques de la figure achromatique; transformations inverses, en quelque sorte, de celles que subit à la prophase l'ébauche fusoriale.

Reprenons maintenant quelques points en détail.

Nous remarquons d'abord que nous n'avons jamais observé une rétraction des filaments fusoriaux vers la plaque cellulaire, ainsi que cela a été souvent décrit, — récemment encore par TIMBERLAKE (00).

Jamais non plus nous n'avons constaté les phénomènes décrits par

Davis, consistant dans une transformation des fibres fusoriales en un amas kinoplasmique granuleux logé au voisinage de chacun des deux noyaux. La transformation télophasique du fuseau se résume simplement en ce que les filaments fusoriaux se détendent de plus en plus et *redeviennent le réseau de la cellule au repos*.

Ce dernier point, nous tenons à y insister, est encore tout à fait évident dans nos préparations. La série des fig. **20**, **21**, **22**, **23**, **24**, est on ne peut plus instructive. Elle est tout aussi « parlante » que la série des fig. **11** et **13**, **12** et **15**, **16**, **17**, **18**, **19**, pour la prophase.

Comment rendre compte de la réapparition d'irradiations polaires? Certains auteurs ne s'en s'expliquent pas (Strasburger, Farmer, Davis); Mottier, dans le *Dictyota*, admet une formation *de novo* de filaments irradiants. Nous verrons plus loin l'interprétation de Chamberlain.

Pour nous, nous expliquons ce phénomène par un procédé inverse de celui qui a amené la disparition métaphasique de l'aster. Ainsi que nous l'avons vu, l'évolution de la figure achromatique durant toute la *prophase* comporte un ramassement, une *concentration*, entre les deux pôles, de tous les filaments qui constituent l'ébauche primitive. Ce mouvement de concentration entraîne le rabattement des irradiations astériennes. Au contraire, la *télophase* est caractérisée par une *distension*, une expansion latérale de tout le fuseau. C'est ce mouvement, croyons-nous, qui amène les irradiations rabattues à entourer de nouveau le pôle, ou mieux à entourer le jeune noyau en formation, comme les figures le montrent. Et cela se comprend d'autant plus aisément que les filaments astériens de chaque pôle, lorsqu'ils se sont rabattus sur les flancs du noyau, sont cependant demeurés indépendants de ceux du pôle opposé, et peuvent par conséquent, sans rupture, par suite de la distension latérale du fuseau, reprendre leur position première. En d'autres termes, ces filaments ont été, à la prophase, amenés dans l'axe du fuseau par le jeu des « forces cinétiques ». A la télophase, ces forces cessant d'agir, ils reprennent leur position d'équilibre normal.

Cette interprétation est d'abord très naturelle et très simple. De plus, elle établit l'accord entre les phénomènes inverses de la prophase et de la télophase. C'est pourquoi nous l'estimons vraie.

Chamberlain ne dit pas comment réapparaissent les fibres polaires. Mais il attribue à cette réapparition un rôle important. Il la considère, en

effet, comme une nouvelle manifestation de l'activité kinoplasmique entrant en jeu dans la formation de la membrane nucléaire ou d'une « Hautschicht » entourant celle-ci. L'auteur émet cette idée comme une simple hypothèse. Nous ne nous y arrêterons donc pas. Nous ferons remarquer seulement que, selon nous, comme nous l'avons déjà rappelé plus haut, il n'y a à la limite du noyau et du cytoplasme qu'une seule « Hautschicht » : la membrane nucléaire elle-même. De plus, le phénomène de la réapparition des asters ne nous semble pas avoir de signification spéciale, mais résulter simplement de la distension télophasique du fuseau.

Nous n'ajouterons plus qu'un mot touchant la *plaque cellulaire*. D'abord, nous sommes portés à croire que l'accroissement numérique apparent des fibres fusoriales, préalable à la formation de la plaque cellulaire, est dû simplement à ce que les filaments qui étaient très tassés, très étroitement serrés dans le fuseau, se dégagent maintenant les uns des autres. Strasburger, en 1898, avait cru voir des « filaments unissants » se dédoubler longitudinalement. Nous sommes portés à voir dans ces apparences la réapparition de mailles étirées du réseau, qui étaient devenues indistinctes dans le fuseau.

De plus, étant donnés les grands écartements qui existent déjà entre les filaments du fuseau distendu au moment où la plaque cellulaire se forme, nous penchons à admettre que la plaque ne se produit pas par la soudure latérale de renflements équatoriaux formés sur les filaments, mais plutôt par une transformation de l'enchylème suivant le plan équatorial. transformation dans laquelle seraient *englobés* les filaments eux-mêmes. Ce serait une formation de la plaque analogue à ce qu'ont décrit Strasburger (93), et surtout Mottier (97 et 00) et Ferguson (02) [1]. Les épaississements équatoriaux des filaments connectifs ne seraient pas réels. Ils seraient dus simplement au dépôt, *autour* de chaque filament, de la substance qui forme la plaque.

En résumé, à la télophase, le fuseau se distend. *Les filaments se dégagent les uns des autres et redeviennent le réseau général de la cellule.*

[1] Voir principalement Mottier (00, p. 184).

II. Les premières segmentations; les fuseaux de maturation.

Les FIG. 4-9, PL. II, montrent la série des phénomènes dans la première cinèse de segmentation de la spore. Les processus qu'elles représentent s'observent également dans la seconde cinèse et parfois dans la troisième, lorsque les cellules en division contiennent un grand nombre de grains d'amidon assez étroitement réunis les uns contre les autres.

Dans ces cellules, par suite de la circonstance que nous venons de rappeler, on ne peut que difficilement, à l'état de repos, suivre le réseau protoplasmique insinué entre les enclaves. Cependant, comme la suite va nous le montrer, le cytoplasme à ce stade jeune de la germination est plus abondant qu'aux stades ultérieurs. Le premier début du mouvement cinétique est marqué dans la FIG. 6. On voit aux deux pôles, — ou en un seul, — un grand nombre de filaments, dont une partie forme une sorte de cône descendant vers le noyau encore fermé de toutes parts et venant l'envelopper, et une autre partie se trouve assez irrégulièrement massée autour de la pointe du cône. Remarquons d'abord qu'il n'y a pas ici de vésicule polaire. De plus, il n'y a pas d'asters bien dessinés; la FIG. 6, de face, et la FIG. 4, — vue polaire, — font bien voir qu'autour de la pointe du cône fusorial, les filaments ne montrent qu'une orientation assez confuse. La FIG. 5, qui représente un pôle seulement d'une ébauche fusoriale, ne montre même pas autre chose que le cône de filaments qui enveloppe le noyau. Dans tous les cas, au centre des filaments polaires, on n'observe aucune formation centrale, ni centrosphère, ni corpuscule central. D'ailleurs, comme nous venons de le dire, et comme le montre bien la FIG. 4, les filaments polaires ne sont même pas centrés régulièrement. Remarquons encore qu'il y a beaucoup plus de filaments achromatiques dans cette première et seconde cinèse que dans les cinèses suivantes [1]. Enfin, malgré la difficulté de suivre le cytoplasme au milieu des enclaves, on peut encore se rendre compte, d'une part, que les filaments achromatiques sont en continuité avec les filaments cytoplasmiques du réseau général et qu'ils ne sont pas autre chose que ceux-ci orientés, et d'autre part, que les « cônes »

[1] Toutefois le graveur n'a pas bien rendu les dessins des FIG. 5 et 6 de la PL. II. D'abord, il y a moins de filaments qu'il n'en a indiqués; ensuite tous ces filaments sont encore à ce stade nettement réunis en un réseau.

fusoriaux enveloppent tout le noyau et sont en continuité de filaments l'un avec l'autre d'un pôle à l'autre.

Toute cette ébauche de la figure achromatique se trouve logée dans une région pour ainsi dire creusée au sein de l'amas d'enclaves. Les grains de fécule entourent d'une façon très serrée les deux zones plus claires où s'édifie la figure, et, comme nous l'avons déjà dit, remplissent presque toute la cavité cellulaire.

La marche des phénomènes se déroule ensuite d'après le plan que nous avons détaillé dans notre première partie pour les cinèses ultérieures.

Pendant que s'organisent les chromosomes, tout l'ensemble des filaments achromatiques se rabat sur les flancs du noyau et envahit latéralement la cavité nucléaire. Le fuseau achevé n'est jamais aussi aigu à ses extrémités que le fuseau des cinèses plus avancées dans la germination, FIG. 7 et 8. L'anaphase et la télophase sont encore marquées ici par une distension de la figure achromatique : les filaments marginaux reprennent, par suite de ce relâchement, une disposition rayonnante autour du tassement polaire des chromosomes, et le reste du fuseau envahit progressivement la cavité cellulaire, où il repasse à l'état de réseau général, FIG. 9.

Le nucléole persiste jusqu'à un moment où le fuseau est presque achevé. Nous n'avons pas suivi, ici non plus, une vacuolisation ou une granulisation du nucléole. Parfois même, nous retrouvons ce dernier plongeant dans le fuseau achevé, à la métaphase. Nous pensons qu'ici encore il ne fournit à la figure achromatique aucune portion intranucléaire.

Dans le noyau, au moment où les chromosomes sont presque achevés ou même tout à fait achevés, on observe souvent quelques filaments très granuleux et prenant assez vivement la laque d'HEIDENHAIN. Ces filaments sont peu nombreux et très irrégulièrement distribués. Leur origine ne nous semble pas douteuse. La voici : les chromosomes se forment de la façon décrite par GRÉGOIRE et WYGAERTS (03) pour les cinèses méristématiques des phanérogames. Ce sont des « tranches de réseau », des « bandes alvéolaires-réticulées », qui, en se concentrant, deviennent, sans plus, les chromosomes définitifs, FIG. 6. Dans cette œuvre de « ramassement chromatique », un certain nombre de tronçons filamenteux du réseau quiescent ne sont pas employés et on les voit traîner dans la cavité nucléaire durant que s'achève la concentration chromatique dans chaque chromosome. Que telle est l'origine de ces filaments, c'est ce qui résulte de leur nature chromatique, de leur parfaite ressemblance avec des tronçons du réseau quiescent, et enfin du

fait qu'à ce moment le nucléole est encore intact et parfaitement coloré. On voit donc que, même pour ces cinèses, nous n'admettons pas l'opinion de CHAMBERLAIN sur l'évolution du nucléole.

Ces filaments sont donc des *débris* du réseau nucléaire et c'est comme tels qu'ils se comportent dans la suite. Ils ne prennent pas part, en effet, ainsi qu'on pourrait le penser, à l'édification du fuseau, mais ils sont simplement englobés, enserrés par le fuseau, lorsque celui-ci envahit latéralement l'aire nucléaire [1].

Le fuseau des cinèses initiales de la germination est donc encore formé simplement par l'orientation du réseau cytoplasmique général et redevient ce réseau à la fin de la cinèse.

La différence entre ces cinèses du début de la segmentation de la spore et celles qui se produisent dans la suite se ramène donc simplement à la présence d'un aster très distinct dans celles-ci, — du moins dans celles que nous avons étudiées, — tandis que les premières ne possèdent qu'une vague orientation polaire.

Comment expliquer cette différence, dans nos objets, entre les premières cinèses et les cinèses ultérieures, et en même temps la différence, au point de vue des premières cinèses, entre nos observations et celles de DAVIS et de CHAMBERLAIN. C'est au cours de ces divisions que les deux auteurs américains observent les asters les mieux définis ; ce n'est que dans les divisions ultérieures que nous les rencontrons dans nos objets. Tout cela s'explique, nous parait-il, assez aisément. La première ébauche achromatique, nous l'avons vu, n'est, — dans tous les cas, — pas autre chose que le réseau cytoplasmique général orienté entre deux pôles et autour de ces pôles. Pour que cette orientation amène la formation d'irradiations polaires bien nettes, il faut d'abord qu'il n'y ait pas trop peu de ce réseau général. Dans ce cas, en effet, il n'y aura qu'un petit nombre ou même pas du tout de filaments divergeant autour du pôle dans la cavité cellulaire.

---

[1] Nous pouvons faire remarquer ici en passant que, à notre avis, c'est ainsi qu'il faut expliquer la participation décrite plusieurs fois déjà d'une partie assez considérable du réseau chromatique à l'édification du fuseau [entre autres, WILSON (95) et SCHOCKAERT (00)] Nous pensons que dans ces cas-là aussi il s'agit d'une portion de réseau chromatique inemployée qui, se trouvant dans la zone où s'élabore le fuseau, subit, elle aussi, l'orientation fusoriale ; mais nous croyons qu'elle est simplement aussi englobée par le fuseau, qu'elle prend part pour ainsi dire passivement à la formation de la figure achromatique et qu'elle n'est pas spécialement destinée à cet effet.

L'ébauche achromatique sera réduite aux filaments qui enveloppent le noyau.

D'autre part, s'il y a une trop grande quantité de réseau général amassée au pôle, il semble que l'orientation ne parviendra pas à dessiner, dans cet amas, des lignes maîtresses bien ordonnées et constituant des irradiations astériennes.

Ces deux remarques nous expliquent, d'une part, les différences entre les cinèses successives d'une même germination et, d'autre part, nos divergences avec nos devanciers.

Touchant le premier point, on comprend que l'on n'observe pas d'asters au cours des premières cinèses : le réseau cytoplasmique y est abondant et se trouve ramassé aux pôles par suite du grand nombre d'enclaves qui remplissent les cellules. Si les cinèses très avancées ne montrent pas non plus d'irradiations polaires, c'est que le réseau cytoplasmique y est réduit. Il n'y a que les cinèses intermédiaires qui vérifient les conditions pour la formation d'asters bien définis. Quant à la divergence entre notre description des premières cinèses et celles de Davis et de Chamberlain, elle s'explique simplement par une différence accessoire dans le matériel qui a servi de base aux descriptions. C'est que dans le matériel de *Pellia*, étudié par Davis et par Chamberlain, les premières cellules contenaient moins de réseau et moins d'enclaves que dans notre matériel. Et ce qui confirme très nettement cette explication, c'est que Chamberlain lui-même remarque que la figure achromatique de la seconde cinèse est plus claire que celle de la première, et que, de plus, contrairement à la description de Davis, la troisième cinèse montre encore de beaux asters. Le matériel étudié par Chamberlain occuperait donc une position intermédiaire entre notre matériel et celui de Davis.

Ce que nous tenons surtout à faire remarquer ici, c'est que le fait de posséder ou non des irradiations astériennes ne constitue pas la base d'une différence *essentielle* entre les cinèses successives, ainsi que semble le comprendre Davis, mais n'a pas d'autre valeur que celle d'une différence *accessoire*, n'atteignant pas l'appareil essentiel de la figure achromatique de la cinèse, mais résultant simplement des circonstances dans lesquelles s'édifie la figure. Cela se déduit non seulement de l'ensemble de nos observations, mais encore du fait que, au cours des premières cinèses, alors qu'il existe certainement assez de réseau cytoplasmique pour produire des asters, nous n'en voyons pas de bien définis; tandis que Davis et Chamberlain, au

contraire, observent là leurs plus beaux asters. Cela montre évidemment que la formation d'irradiations astériennes, — ou, pour parler plus justement, l'apparition nette de portions rayonnantes dans les parties polaires de l'ébauche achromatique, — tient uniquement à des circonstances secondaires, circonstances qui n'étaient pas identiques dans les objets étudiés par Davis et par Chamberlain et dans le matériel que nous avons nous-mêmes observé.

L'absence de vésicules polaires se comprend facilement, si l'on considère que, dans les cinèses dont nous parlons, le noyau est toujours assez allongé, fig. 6.

Nous n'avons plus à ajouter ici qu'un mot au sujet des *cinèses sporocytaires*. Nous avons reproduit, fig. 1 et 2, Pl. II, deux aspects de la première cinèse, montrant une formation de fuseau semblable à celle que nous venons de décrire pour la première segmentation; il n'y a pas de centrosphère ni de vésicules. L'aster y est très indistinct et l'ébauche au début est tétrapolaire. La fig. 3 montre que les quatre noyaux se produisent non pas en une seule étape, mais par l'intervention de deux figures. Nous confirmons ici, dans plusieurs de ses points, la description de Davis.

III. Remarques critiques.

Nous réunirons ici quelques discussions de points spéciaux théoriques que nous avons voulu, pour plus de clarté, séparer de la partie descriptive.

I. Le kinoplasme.

La question du kinoplasme comprend plusieurs sous-questions : toutes celles qui concernent la participation éventuelle de différents éléments cellulaires à l'édification du fuseau et la nature de ces éléments. Il faut ici en considérer quatre : l'ébauche cytoplasmique primitive, les vésicules polaires, le nucléole, le noyau.

Nous avons déjà vu que ni les vésicules polaires, ni une partie de la structure intérieure du noyau, ne fournissent d'élément au fuseau et ne peuvent par conséquent être considérées comme de nature kinoplasmique.

En ce qui concerne le nucléole, nous avons vu qu'il ne fournit directe-

ment aucune partie intranucléaire du fuseau ; mais nous avons laissé sans réponse définitive, dans notre objet, la question de savoir si la substance nucléolaire ne sert pas au renforcement des fibres achromatiques cytoplasmiques.

Il nous reste ici à ajouter encore quelques mots pour compléter ce que nous avons dit dans la partie descriptive au sujet de la valeur de l'ébauche cytoplasmique primitive et de son évolution.

Davis admet que les asters et le fuseau s'édifient aux dépens d'un *kinoplasme cytoplasmique*. Le phénomène précurseur de la formation du fuseau serait, d'après lui, l'accumulation autour du noyau d'un kinoplasme granuleux, distinct du reste du cytoplasme alvéolaire, et qui, dans les premières cinèses, s'organiserait en asters, tandis que dans les cinèses ultérieures il prendrait la forme de « cap » recouvrant les deux pôles du noyau. Ensuite, les filaments fusoriaux s'allongeraient dans l'intérieur du noyau. Enfin, à la télophase, le kinoplasme reprendrait de nouveau l'aspect granuleux et s'accumulerait auprès des deux noyaux-filles.

Chamberlain n'est pas tout à fait décisif sur l'origine et la valeur morphologique des filaments astériens. Il a observé, *parfois*, des zones finement granuleuses, à la prophase. Mais il n'a pas pu suivre la formation des rayons astériens. Ceux-ci d'ailleurs apparaissent subitement et l'auteur est porté à les considérer comme des « lines of streaming material ». Il ajoute toutefois que le mode de formation des asters est « largely conjectural ».

Avant de dégager la signification de nos observations au sujet de la question du kinoplasme, il faut rappeler la teneur de l'hypothèse de Strasburger. Elle est bien définie, entre autres, dans « Die pflanzliche Zellhäute » de 1898, p. 516 et suivantes. Strasburger admet l'existence dans la cellule de *deux sortes de cytoplasme figuré*, organisé : une portion, *alvéolaire*, surtout développée pendant le repos et constituant le *trophoplasme* ; une autre, *filamenteuse*, surtout développée durant la cinèse, parfois peu visible durant le repos et constituant le *kinoplasme*. Celui-ci se développe beaucoup, au début de la cinèse, au dépens de la substance nucléolaire.

Nos observations nous ont conduits à nier, chez le *Pellia*, l'existence d'un kinoplasme, dans le sens que nous allons préciser en le démontrant.

Nous avons vu, de la façon la plus claire, que le fuseau n'est pas autre chose que le *réseau cytoplasmique général* orienté et que, après la cinèse, le fuseau redevient, en se détendant, le réseau général. Outre ce réseau, il n'y a dans la cellule au repos que l'enchylème cytoplasmique et quelques

granulations. Le réseau représente le seul constituant régulièrement organisé du cytoplasme [1].

De là, il résulte d'abord que ni la conception de DAVIS ni celle de CHAMBERLAIN ne s'appliquent au *Pellia*. Le défaut des observations de ces deux auteurs, nous l'avons dit, réside dans le fait qu'ils n'ont pas constaté les connexions entre les rayons astériens et un réseau général cellulaire.

De plus, l'interprétation de STRASBURGER ne s'applique pas non plus au *Pellia*, où nous ne voyons qu'un seul cytoplasme figuré, le réseau qui devient le fuseau.

La question du *kinoplasme cytoplasmique*, cependant, n'est pas encore tranchée par là. S'il était démontré, en effet, que ce réseau général a pour rôle principal la formation du fuseau et les phénomènes semblables et que toutes les opérations trophiques se passent au contraire dans l'enchylème qui en remplit les mailles, on pourrait encore, en raison de cette division du travail, appeler le réseau du nom de kinoplasme. C'est peut-être une semblable interprétation qui représente l'idée d'ALLEN au sujet du *Larix*. Il écrit, en effet, que le réseau est le seul constituant figuré du protoplasme et néanmoins il l'appelle kinoplasme.

Transportée sur ce terrain, la question devient extrêmement délicate et difficile à résoudre, et nous ne nous arrêterons pas à discuter les éléments de solution qu'on pourrait glaner dans les données déjà acquises.

Il nous suffira d'avoir montré ici que le *Pellia* ne possède pas un kinoplasme cytoplasmique localisé en un endroit restreint de la cellule, ou *distinct d'une autre portion figurée du cytoplasme*.

Nous n'ajouterons plus que quelques remarques. DAVIS indique sa figure 24 comme montrant le kinoplasme granuleux du début. Il nous semble plutôt que cette figure montre les filaments astériens, tout comme la fig. 23. De même, nous avons assez de peine à trouver dans la fig. 28 des « caps » de kinoplasme granuleux.

D'autre part, dans les fig. 36 et 37, l'auteur montre des filaments *protoplasmiques*, dit-il, « disposés plus ou moins en asters ». Mais DAVIS considère ces aspects comme sans importance. D'après lui, *ils n'ont rien de commun avec le futur fuseau*. Il nous parait que l'auteur n'apporte aucune preuve de cette assertion. De plus, il nous semble évident que les éléments

---

[1] Rappelons que, dans les végétaux, la formation du fuseau aux dépens du réseau général a été *spécialement* décrite par BLACKMANN (98) et ALLEN (03).

que l'auteur dessine aux deux pôles du noyau, fig. 38, et qu'il considère comme devant là donner le fuseau, sont bien du protoplasme général au même titre que les irradiations des fig. 36 et 37.

Enfin, nous ferons encore remarquer que les fig. 23 et 30 montrent assez nettement que les fibres des asters primitifs enveloppent le noyau.

2. Naturalité des structures cytoplasmiques.

Les observations que nous avons faites sur le *Pellia* présentent, croyons-nous, une grande importance pour la question de la naturalité et de la valeur des structures cytoplasmiques et cinétiques.

On sait que Fischer (99) considère les structures cytoplasmiques réticulées, alvéolaires, etc., comme résultant de précipitations produites au sein d'un protoplasme homogène, lors de la pénétration des réactifs fixateurs. Et, en ce qui concerne la figure achromatique, le même auteur n'admet pas qu'elle soit formée aux dépens d'une structure préexistante. Les filaments achromatiques ne seraient que des produits d'une précipitation *in vivo* qui se fait, lorsque le noyau s'ouvre aux pôles et que les substances nucléaires se trouvent mélangées aux substances cytoplasmiques.

Flemming (97) a déjà fait valoir, en faveur de la naturalité du *réseau cytoplasmique*, la continuité que l'on observe entre les filaments de ce réseau d'une part, et, d'autre part, les rayons astériens.

Le *Pellia* nous semble apporter des éléments de conviction bien plus décisifs encore en ce qui concerne le cytoplasme aussi bien que la figure achromatique.

En effet, il est évident, dans le *Pellia*, que la figure achromatique provient de l'orientation d'une structure réticulée. Nous suivons, pas à pas, ainsi que nous l'avons décrit, *l'orientation graduelle du réseau primitif existant dans les cellules quiescentes*. Il en résulte que 1° le fuseau n'est pas et ne peut pas être, ainsi que le pense Fischer, le résultat d'une « Selbst- » ou d'une « Fremd-strahlung », et que 2° le réseau cytoplasmique est naturel. Si l'un de ces deux points n'était pas vrai, il faudrait admettre qu'une précipitation artificielle ou naturelle a produit non seulement le réseau et le fuseau, mais tous les stades *intermédiaires simulant le passage graduel de l'un à l'autre*. C'est là évidemment une absolue impossibilité. C'est impossible en admettant, comme le fait Fischer, un réseau de précipitation artificielle et un fuseau de précipitation naturelle. Mais c'est

aussi impossible même en admettant pour les deux précipitations une cause naturelle [1]. Nous pensons que ces observations sur l'origine du fuseau dans le *Pellia* constituent le plus solide argument en faveur de la naturalité des structures cytoplasmiques.

Le même raisonnement s'applique avec la même force à l'*évolution télophasique* de la figure achromatique, consistant en ce que celle-ci, *graduellement*, se distend dans la cavité cellulaire et y redevient le réseau quiescent.

3. Centrosphère et corpuscule central.

Les données que fournit le *Pellia* touchant la question de la centrosphère et du corpuscule central sont très importantes. Il sera utile de s'y arrêter ici encore quelques instants.

Il faut d'abord remarquer que la question qui se pose pour le *Pellia* concerne non pas le corpuscule central, ou centriole, — nous sommes d'accord avec Davis et Chamberlain pour en nier la présence, — mais concerne seulement la centrosphère. Or, cela va tout à fait à l'encontre des idées admises pour les objets où on a observé des formations polaires régulières. Dans ces cas, c'est au contraire au centriole, au granule central, que beaucoup d'auteurs tendent à attribuer toute l'importance [2].

Voyons maintenant ce que l'on peut dire sur la valeur de la « centrosphère elle-même ». Davis lui attribue une grande importance et fait grand état de cette différence entre les cinèses initiales et les cinèses ultérieures, consistant en ce que dans les premières le kinoplasme prend la forme d'une centrosphère et d'un aster, tandis que ces différentiations kinoplasmiques n'existent pas dans les cinèses avancées.

Chamberlain la considère comme faite de la même substance que les rayons, il admet une contribution de la centrosphère à la formation des rayons et en même temps une participation de ceux-ci à la formation de la centrosphère. Davis et Chamberlain en tous cas considèrent tous deux la centrosphère comme un organe *sui generis*.

---

(1) Tout récemment, Nemec (04) a fait valoir encore de très bonnes raisons contre l'hypothèse de Fischer.

(2) Entre autres : Meves (02), p. 49 : « Nur von den Centriolen nicht aber von den Centrosomen kann daher gelten dass sie allgemeine und dauernde Zellorgane sind », et Strasburger (02), p. 609.

Nous pensons, au contraire, que l'ensemble des faits que nous possédons maintenant sur les cinèses dans le *Pellia* nous oblige à considérer les « centrosphères » comme des formations accidentelles, sans aucun rôle et sans aucune importance.

Il suffit pour s'en convaincre de rappeler les faits observés par nous-mêmes et par nos devanciers. Nous n'avons, pour notre part, observé que très rarement un empâtement central simulant une centrosphère; cet empâtement s'explique facilement comme un effet de la confluence serrée des filaments astériens, FIG. 8, *b*, *c*, jointe parfois à la présence de microsomes plus ou moins épais, FIG. 8, *f*, et accentuée souvent par le fait que les extrémités centrales des rayons astériens sont assez renflées; de l'aveu de DAVIS, la centrosphère est *souvent vague* et *parfois entièrement absente*, même quand l'aster est bien développé [1]; de plus, les centrosphères que dessine l'auteur, fig. 25-29, 35, sont extrêmement variables et souvent indécises; CHAMBERLAIN, lui aussi, dessine, sous le nom de centrosphères, les zones centrales *les plus disparates* et, dans plusieurs figures munies d'asters, ne montre absolument rien d'une centrosphère; durant le repos, ou même si près que ce soit avant la constitution des asters, personne n'a observé quoi que ce soit qui ressemblât à une centrosphère; ce n'est que lorsque l'orientation astérienne est bien constituée que l'on observe, — quelquefois, — une sorte d'empâtement central; de même, cette « formation » ne survit pas à l'aster; lorsque les filaments de celui-ci se rabattent sur les flancs du noyau, toute trace de « centrosphère », — et cela d'après tous les auteurs, — disparaît complétement. Tout cela, évidemment, ne s'expliquerait pas si ces « centrosphères », — en admettant que parfois il en existe de bien nettes, — étaient réellement des organes « *sui generis* », des constituants autonomes de l'appareil achromatique; cela ne se comprend que si l'on admet que dans les rares cas où il existe une sorte de différentiation centrale, celle-ci ne constitue qu'une disposition accidentelle, un empâtement quelconque produit à la rencontre des filaments astériens et tel qu'il pourrait s'en former de semblables, dans des circonstances analogues, même en dehors de la cinèse.

Cette conclusion nous semble encore *singulièrement corroborée* par le fait qu'on n'observerait ces « centrosphères » que durant une certaine période de l'ontogénèse, et surtout par le fait que cette période serait diffé-

---

[1] The centre of the aster may be merely a region where a number of radiations converge and without further form, p. 166.

rente dans notre matériel, — où il n'y a d'asters qu'à partir de la troisième cinèse, — et dans le matériel étudié par DAVIS et par CHAMBERLAIN.

Ces données sur le *Pellia*, avons-nous dit, sont fort importantes. Non seulement elles permettent de faire rentrer ces plantes, avec les ptéridophytes et les phanérogames, dans le groupe des végétaux dépourvus de tout centre cinétique. Mais de plus elles écartent certaines hypothèses qui avaient été faites pour sauvegarder l'existence de cytocentres même dans les plantes vasculaires; MEVES surtout a tenté cette réconciliation entre les végétaux et les animaux. Tout en reconnaissant (02, p. 45) que les nouvelles descriptions de GUIGNARD (98), de BERNARD (00), et de YAMANOUCHI (01), ne sont pas démonstratives, il croit trouver dans certaines de ses observations sur les cellules animales la possibilité de cette réconciliation. En 1901, il décrivit avec VON KORFF, dans les myriapodes, des fuseaux dont les corpuscules centraux sont situés à une grande distance des deux pôles du fuseau [1]; en rapprochant de cette observation les descriptions de blépharoblastes dans la spermatogénèse des Cycadacées et des ginkgoacées, il conclut que peut-être là se trouve l'explication des observations négatives sur la question du cytocentre dans les *fuseaux bipolaires* des végétaux supérieurs. On aurait pu, d'après MEVES, trouver les cytocentres non pas précisément aux pôles du fuseau, mais à une certaine distance de là. Il est clair que le *Pellia* va en l'encontre de cette ingénieuse hypothèse. Les cinèses du *Pellia*, en effet, possèdent des asters et il est bien évident que, si elles possédaient aussi des cytocentres, ceux-ci devraient se trouver au centre des asters, et non ailleurs. Or, en ces endroits, on n'observe que de fausses centrosphères et de faux corpuscules centraux. D'ailleurs, l'hypothèse de MEVES se trouve contredite, même dans les plantes supérieures par les cas nombreux où les pointes des cônes fusoriaux sont au voisinage immédiat de la « Hautschicht », et où par conséquent le corpuscule central, s'il existait, ne pourrait se trouver éloigné de la pointe fusoriale [2].

L'intérêt du *Pellia* au point de vue qui nous occupe, c'est que la figure achromatique ne montre que de faux corpuscules centraux et de fausses centrosphères et néanmoins possède de superbes asters.

On doit rapprocher de cette donnée certaines constatations du même genre faites chez les animaux : les fuseaux de *segmentation* du *Bufo lenti-*

---

(1) Fait observé en même temps par BOUIN et COLLIN (01).

(2) STRASBURGER a déjà montré (01) que l'hypothèse de MEVES ne s'applique pas aux plantes supérieures.

ginosus, par exemple, sont, d'après H. King (01), munis de très beaux asters, mais dépourvus de tout centrosome ou centriole. Ce rapprochement jette peut-être un certain doute sur l'importance des centrosomes et centrioles en général.

4. Mécanisme de la caryocinèse.

Notre intention n'est nullement d'étudier complétement cette question. Nous ne voulons toucher ici qu'un seul point, celui du mécanisme de la *formation de la figure achromatique* (1). Les cinèses du *Pellia* contredisent, en effet, absolument certains essais d'explication déjà proposés ailleurs et c'est là ce que nous voulons ici relever.

Il est d'abord clair que l'on ne peut pas dans le *Pellia*, considérer la figure achromatique et spécialement l'ébauche primitive comme la manifestation de forces centrées aux pôles et comparables, sinon dans leur nature, du moins dans leur façon d'agir, à des forces magnétiques [Gallardo (96 et 01), Ziegler (95)]. Nous avons vu, en effet, que les filaments astériens se rabattent sur les flancs du noyau en pivotant autour du pôle; ce mouvement est en tout cas tout à fait certain pour une bonne partie des irradiations polaires. Or, ce pivotement est directement en opposition avec l'hypothèse que nous venons de rappeler et doit être ajouté à la série de faits qui lui sont défavorables.

Il est encore impossible d'appliquer au *Pellia* l'hypothèse, si artificielle, d'ailleurs, de Heidenhain, sur la formation de l'amphiaster, hypothèse trop connue pour qu'il soit nécessaire de la rappeler. D'abord, il n'y a pas ici de centrosome et les deux asters se forment dès le début aux deux pôles du noyau. De plus, ni avant, ni pendant, ni immédiatement après la première apparition de l'ébauche achromatique, les filaments ne sont tendus ainsi que l'exige l'hypothèse de Heidenhain. Il suffit d'observer nos figures pour s'en convaincre (2). Enfin, l'hypothèse de la tension des fibres astériennes est encore formellement contredite par le rabattement des irradiations polaires.

---

(1) Touchant la question du mouvement des chromosomes, nous n'avons, en effet, rien à ajouter à ce que nous avons écrit, p. 216. Nos observations sur le *Pellia* ne nous permettent pas d'en dire plus.

(2) Plusieurs auteurs ont déjà fait valoir une raison semblable contre l'hypothèse d'Heidenhain. (Voir Meves, 97, p. 379.)

Chamberlain attribue aussi, dans le *Pellia*, un certain rôle à la contraction des fibres astériennes. Plusieurs d'entre elles, dit l'auteur, unissent le pôle de la figure à la « Hautschicht » périphérique. Peut-être servent-elles à écarter l'un de l'autre, à la prophase, les deux pôles de la figure. Et cela concorderait aussi, ajoute Chamberlain, avec le fait que les asters disparaissent précisément dès que les pôles ont atteint leur plus grand écartement. Cette interprétation est contredite, de même que la précédente, par le fait que les fibres astériennes ne sont pas tendues, mais lâchement orientées. De plus, la disparition des asters s'explique d'une autre façon, ainsi que nous l'avons vu.

D'ailleurs, — et ceci nous semble très important et s'applique à toutes les hypothèses qui font jouer à l'aster un rôle essentiel, — il ne faut pas oublier que l'on n'observe de beaux asters que dans certaines cinèses. Si donc les asters avaient le rôle que leur attribue Heidenhain ou même le rôle plus restreint que leur confie Chamberlain, il faudrait admettre que le mécanisme de la division changerait entièrement d'une cinèse à l'autre, au cours de la germination de la spore; il faudrait admettre que l'écartement des pôles s'opèrerait, dans deux cinèses voisines, par deux mécanismes tout différents, ce qui est tout à fait invraisemblable. Nous l'avons déjà dit : le fait que l'aster ou plutôt la disposition du cytoplasme en aster n'apparaît qu'à certaines cinèses initiales de la germination de la spore montre bien qu'il ne s'agit pas là d'une disposition physiologique, destinée à jouer un rôle dans la cinèse, mais simplement d'une disposition accessoire, dépendant de certaines conditions qui varient au cours de l'ontogénèse : la quantité de protoplasme et le nombre des enclaves.

Jusqu'ici nous n'avons fait qu'exclure, en ce qui concerne le *Pellia*, certains essais d'explication proposés pour d'autres objets. Nous ne nous arrêterons pas maintenant à essayer nous-mêmes une explication. Nous le ferons prochainement.

CONCLUSIONS.

Cinèses de segmentation de la spore (à partir de la troisième).

1. Le fuseau débute par une ébauche achromatique cytoplasmique, comportant deux *asters* nettement dessinés, situés en deux pôles du noyau et surmontant, en général, deux *vésicules polaires*. Les asters sont continus l'un avec l'autre d'un pôle à l'autre. L'ébauche achromatique *enveloppe* donc les vésicules polaires et le noyau.

2. La figure au début résulte simplement de l'orientation, autour de deux pôles, du *réseau général* du cytoplasme, réseau qui représente le seul constituant figuré du protoplasme.

3. Ni dans la cellule au repos, ni au centre des asters, il n'existe de vraie *centrosphère* ou de véritable *corpuscule central*.

4. Les filaments qui constituent les asters proprement dits *se rabattent*, par un mouvement de pivotement, sur les flancs du noyau encore fermé, et toute l'ébauche achromatique cytoplasmique, située ainsi complétement entre les deux pôles, se ramasse et s'étire le long de l'axe de la figure. C'est ainsi que se constitue le *fuseau définitif*, dépourvu d'asters.

5. Ni le *noyau* ni les *vésicules* ne contribuent à l'édification du fuseau. Celui-ci envahit *latéralement* les aires vésiculaires et la cavité nucléaire.

Les vésicules ne sont que de l'enchylème nucléaire déversé dans le cytoplasme.

6. Après la caryocinèse, le fuseau se relâche, se distend latéralement. Il redevient ainsi le *réseau général* de la cellule. C'est ce mouvement de distension qui ramène, autour du jeune noyau, les « irradiations astériennes. » La plaque cellulaire ne se forme probablement pas par la fusion de renflements équatoriaux des filaments connectifs.

Premières cinèses de segmentation et cinèses de maturation.

7. Ces cinèses ne montrent pas d'asters bien définis ni de vésicules polaires. A part cela, l'évolution de la figure achromatique est la même que dans les autres cinèses. La différence entre les divisions successives, au point de vue de la première ébauche achromatique, s'explique facilement par les *circonstances* diverses dans lesquelles s'édifie la figure.

Remarques théoriques.

8. On n'observe pas, dans le *Pellia*, de distinction entre un kinoplasme et un trophoplasme. C'est aux dépens de l'unique cytoplasme figuré, le réseau général, que se construit le fuseau achromatique.

9. On ne peut attribuer aucune importance aux formations qu'on décrit sous le nom de centrosphères dans le *Pellia*. Elles ne sont à aucun titre des organites de l'appareil caryocinétique.

10. La genèse et l'évolution de la figure achromatique dans le *Pellia* fournissent une démonstration évidente de la naturalité des structure scinétiques (achromatiques) et cytoplasmiques.

11. Les observations faites sur le *Pellia* contredisent plusieurs des théories émises sur le mécanisme de la cinèse : celle de Ziegler et Gallardo, celle de Heidenhain, et celle de Chamberlain.

LISTE BIBLIOGRAPHIQUE.

1903 *Allen, Ch.* : Early stages of Spindle-formation in the Pollen-mother-cells of Larix; Ann. of Bot., XVII.

1898 *Blackmann, V. H.* : On the cytological features of fertilization and related phenomena in *Pinus silvestris*; Phil. Trans. Royal Soc.

1901 *Bouin, P., et Collin* : Contribution à l'étude de la division cellulaire chez les myriapodes; Anatom Anz., B^d XX.

1903 *Chamberlain* : Mitosis in *Pellia*; Bot Gaz , XXXVI.

1901 *Davis* : Nuclear studies on *Pellia*; Ann. of Bot., XV.

1895 *Farmer* : On spore formation and nuclear division in the Hepaticae; Ann. of Bot., IX.

1894 *Farmer and Reeves* : On the occurence of centrospheres in *Pellia epiphylla*; Ann. of Bot., VIII.

1897 *Flemming, W.* : Ueber den Bau der Bindegewebszellen und Bemerkungen über die Structur der Zellsubstanz im Allgemeinen; Zeitschr. fur Biol., B^d 34.

1901 *Ferguson, Margaret* : The development of the egg and fertilization in *Pinus strobus*; Ann. of Bot , vol. XV.

1899 *Fischer, A.* : Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas; Jena.

1898 *Fulmer* : Cell-division in Pine-seedlings: Bot. Gaz., vol. XXVI.

1896 *Gallardo* : La Carioquinesis; Anales de la Sociedad Cientifica Argentina, tomo XLII.

1901 *Gallardo* : Les croisements des radiations polaires et l'interprétation dynamique des figures de karyokinèse; Compte-rendu de la Soc. de Biol.

1903 *Grégoire et Wygaerts* : La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques. I. Racines de *Trillium grandiflorum* et télophase homœotypique dans le *Trillium cernuum*, La Cellule, t. XXI, 1er fasc.

1898 *Hertwig, R.* : Ueber Kerntheilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von *Actinosphærium Eichorni*; Abh. der K. Bayer. Akad. der Wiss., Cl. II, B^d XIX.

1898 *Hof* : Histologische Studien an Vegetationspunkten; Botan. Centr., B^d LXXV.

1901 *Hottes* : Ueber den Einfluss von Druckwirkungen auf die Wurzel von *Vicia Faba*. Inaugural Dissertation.

1901 *King, H.* : The maturation and fertilization of the egg of *Bufo lentiginosus*; Journ of Morphol., vol. XVII.

1903 *Lawson* : On the relationship of the nuclear membrane to the protoplast; Bot. Gazette.

1897 *Meves* : Zelltheilung; Ergebnisse der Anatomie und Entwickelungsgeschichte.

1901 *Meves und von Korff* : Zur Kenntniss der Zellteilung bei Myriopoden; Arch. f. mikr. Anat., Bd 57.

1902 *Meves* : Ueber oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung, nach Beobachtungen an Paludina und Pygœra; Arch. f. mikr. Anat , Bd 61.

1898 *Mottier* : Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwickelung des Embryosacks und die Vorgänge der Befruchtung; Jahrb. f. wiss. Bot , Bd XXXI.

1900 *Mottier* : Nuclear and cell division in *Dictyota dichotoma*; Ann. of Bot., v. XIV.

1898 *Nemec* : Ueber die karyokinetische Kerntheilung in der Wurzelspitze von *Allium Cepa*; Jahrb. f. wiss. Bot., XXXIII.

1904 *Nemec* : Ueber die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zelltheilung; Jahrb. f. wiss. Bot., Bd XXXIX.

1895 *Rosen* : Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzellen; Cohn's Beiträge, Bd VI.

1898 *Schaffner* : Karyokinesis in the root tips of *Allium Cepa*; Botan. Gaz., XXIV.

1893 *Strasburger* : Ueber das Saftsteigen. Ueber die Wirkungssphäre der Kerne und die Zellgrösse Jena.

1895 *Strasburger* : Karyokinetische Probleme; Jahrb. f. wiss. Bot., XXX.

1898 *Strasburger* : Die pflanzlichen Zellhäute; Jahrb. f. wiss Bot., Bd XXXI.

1900 *Strasburger* : Ueber Reductionstheilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich; Jena.

1901 *Strasburger* : Einige Bemerkungen zu der Pollenbildung bei *Asclepias*; Ber. d deutsch. Bot. Gesells., Bd XIX.

1902 *Strasburger* : Das botanische Praktikum. IV. Auflage.

1904 *Wager* : The nucleolus and nuclear division in the Root-apex of *Phaseolus*; Ann. of Bot., vol. XVIII.

1895 *Wilson* : Archoplasma, Centrosoma and Chromatin in the Sea-Urchin Egg.; Journal of Morph., vol. X.

1895 *Ziegler* : Untersuchungen über die Zelltheilung; Verhandl. der Deutsch Zool. Gesellsch.

EXPLICATION DES FIGURES.

Les figures ont été dessinées à l'aide du prisme de NACHET. *Grossissements* = 1,30 ZEISS *et oc. comp.* 12, *sauf les fig.* **10** *c* (1,30 × 4) *et* **10** *b* (1,30 × 8).

PLANCHE I [1].

Cinèses de segmentation de la spore (à partir de la troisième).

FIG. **1** et **2**. Structure de la cellule au repos. Réseau cytoplasmique général.

FIG. **3**. Vésicules polaires et asters. Continuité des deux asters entre eux. Absence de formation centrale.

FIG **4**. **5**. **6**, **7**, **8**. Différents aspects des asters, montrant leur formation aux dépens d'un réseau, les faux corpuscules centraux et les pseudo-centrosphères.

FIG. **9** et **10** *a*. Asters en vue polaire. Montrent clairement que l'aster n'est pas autre chose que le réseau cytoplasmique orienté; faux corpuscules centraux.

FIG. **10** *b* et **10** *c* Le même aster que celui de la FIG. **10** *a*, mais dessiné, **10** *b* avec l'oc. 8, **10** *c* avec l'oc. 4. Destinées à montrer comment la « centration » de l'aster, apparaissant parfaite avec un faible grossissement, devient assez vague avec de plus fortes lentilles.

FIG. **11**, **13**, **14**. L'ébauche fusoriale, peu de temps après sa formation. — Dans la FIG. **11**, on voit nettement les vésicules enveloppées par l'ébauche achromatique Les filaments qui se projettent sur les vésicules et qui, dans le dessin, s'arrêtent à la membrane du noyau, se comportent en réalité comme les filaments qui descendent sur les flancs des vésicules et du noyau. Formation des asters aux dépens du réseau. Continuité des deux asters l'un avec l'autre. — La FIG. **13**, dans laquelle on n'a pas représenté les contours du noyau et des vésicules encore existants, montre, de face, une ébauche achromatique un peu plus avancée qu'en FIG. **11**. — FIG. **14** : un seul aster vu obliquement: montre que l'aster résulte de l'orientation du réseau.

FIG. **12** et **15**. Rabattement des irradiations sur les flancs du noyau.

FIG. **16**. L'ébauche achromatique enserre de plus en plus le noyau.

---

[1] La première planche ne porte pas l'indication : PLANCHE I.

FIG **17** et **18**. Les aires vésiculaires et nucléaire sont envahies latéralement par le fuseau, qui s'étire de plus en plus.

FIG. **19**. Le fuseau définitif. Plus d'asters. Aucun corpuscule polaire.

FIG **20**. Fuseau au début de l'anaphase.

FIG. **21** à **24**. Le fuseau se distend latéralement dans la cavité cellulaire; par suite de ce mouvement, les irradiations polaires reparaissent. — (Le graveur a marqué trop de filaments dans la FIG. **21**.) — Le fuseau redevient graduellement le réseau cytoplasmique général.

PLANCHE II.

Cinèses de maturation.

FIG. **1**. Première ébauche achromatique cytoplasmique. Ni corpuscule polaire, ni vrais asters.

FIG. **2**. Le fuseau presque achevé.

FIG. **3** Les deux fuseaux de la II^de^ cinèse de maturation.

Premières cinèses de segmentation.

FIG. **4**. Sommet de l'ébauche achromatique, en vue polaire. Orientation très indistincte.

FIG **5** et **6**. L'ébauche achromatique, vue de face, enveloppant le noyau. Pas de vésicules, pas d'asters.

FIG. **7** à **9**. Évolution ultérieure semblable à celle de la figure des autres cinèses de segmentation.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction 193

I. *Cinèses de segmentation (à partir de la troisième)* 195
1. Cellule au repos 195
2. Formation de l'ébauche achromatique. 196
Opinions des auteurs 196
Vésicules polaires 195
Asters 196
Centrosphères 201
3. Évolution ultérieure de l'ébauche achromatique 203
Rabattement des irradiations astériennes. 205
Concentration et étirement de l'ébauche fusoriale 206
Noyau, nucléole et fuseau 208
Vésicules polaires et fuseau 209
4. Le fuseau après la métaphase 215
Les Zugfasern 215
Distension du fuseau, réapparition des irradiations polaires . . . 216
La plaque cellulaire. 218

II. *Les premières segmentations Les fuseaux de maturation* 218
Les premières segmentations 219
Explication des différences entre les cinèses successives et des divergences entre nos observations et celles de nos devanciers 221

III. *Remarques critiques* 223
1. Le kinoplasme 223
2. Naturalité des structures cytoplasmiques 226
3. Centrosphère et corpuscule central 227
4. Mécanisme de la cinèse. 230

Conclusions 232
Liste bibliographique 235
Explication des figures 237

Lith. De Tillenaere Frères, Bruxelles

Planche I.

LA CELLULE

LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

FONDÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

PUBLIÉ PAR

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,

A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

TOME XXI

2e FASCICULE

I. Production artificielle de larves géantes et monstrueuses dans l'Arbacia, par F. A. JANSSENS.

II. La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation, par Victor GRÉGOIRE.

III. L'élément nucleinien pendant les divisions de maturation dans l'œuf de l'Aplysia punctata, par F. A. JANSSENS & G. A. ELRINGTON.

IV. La disparition du bios de Wildiers dans les cultures de levure, par le Dr Abel AMAND.

V. Reconstitution du noyau et formation des chromosomes dans les cinèses somatiques de la larve de Salamandre, par Joseph KOWALSKI.

VI La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogénèse végétale, par Jules BERGHS.

VII. L'évolution du Spermatozoïde de l'Helix pomatia, par A. BOLLES LEE.

Prix : 25 francs.

LIERRE
TYP. DE JOSEPH VAN IN & Cie,
Grand'place, 38.

LOUVAIN
A. UYSTPRUYST, LIBRAIRE,
rue de la Monnaie.

1904

ÉTUDE D'EMBRYOLOGIE EXPÉRIMENTALE

Production artificielle

DE

LARVES GÉANTES ET MONSTRUEUSES

dans l'Arbacia

PAR

F. A. JANSSENS
PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(*Mémoire déposé le 7 mars 1904.*)

Production artificielle de larves géantes et monstrueuses

DANS L'ARBACIA

Pendant un séjour de quelques mois au laboratoire de M. Dohrn, à Naples, nous avons entrepris entr'autres une étude de contrôle du travail de Lœb sur les larves doubles d'*Arbacia*.

Le résultat sommaire de cette étude a déjà fait l'objet d'une note dans les « Comptes rendus » du 27 juillet 1903. Depuis, nous avons eu l'occasion d'examiner du matériel frais grâce à l'obligeance de notre collègue M. Gilson et nous avons pu étudier d'autres espèces dans notre laboratoire d'embryologie expérimentale établi à l'Institut Carnoy. Les nouvelles données que nous ont fournies ce matériel ainsi que l'étude des coupes faites depuis ont modifié et considérablement complété nos premiers résultats.

Nous tenons à remercier ici MM. Driesch, Herbst et Wilson pour la complaisance avec laquelle ils nous ont accueilli.

Le présent mémoire est divisé en trois parties. Dans la première partie, nous verrons quel est le sort des œufs soumis au traitement décrit par Lœb. Dans une deuxième partie, il s'agira de certaines masses plasmodiales qu'on trouve dans les pontes d'*Arbacia*. Enfin, dans la troisième partie, nous décrirons des larves géantes et monstrueuses, auxquelles les œufs peuvent donner naissance dans certaines conditions.

Chapitre I.

Développement anormal résultant du séjour des œufs d'Arbacia dans de l'eau de mer hypotonique.

§ I. Méthodes.

La méthode employée dans ce travail est empruntée en majeure partie à Lœb.

Nous avons cependant introduit une légère modification à la méthode de récolte des œufs. Quand on coupe les ovaires d'*Arbacia* pour les secouer dans l'eau de mer comme on le fait le plus souvent, on obtient un mélange d'œufs mûrs et d'œufs ovariens à des étapes plus ou moins avancées de leur développement. Nous évitons cet inconvénient en opérant de la manière suivante : nous coupons les animaux transversalement avec des ciseaux en faisant attention de ne pas entamer leurs glandes génitales énormes. Nous prenons ensuite la partie qui renferme ces glandes et qui est la partie supérieure de l'animal et la retournons sur une cuvette renfermant un peu d'eau de mer. Les parois musculeuses des glandes se contractent bientôt et les œufs sont expulsés par une sorte de ponte artificielle. Nous opérons de même pour les mâles. On est sûr de cette manière de n'obtenir dans le liquide que des produits mûrs et des éléments qui sont libres à l'intérieur des ovaires.

On sait que, quelques minutes après la fécondation, il apparaît autour des œufs des échinides une membrane bien nette, qui devient surtout visible par le fait qu'elle s'écarte quelque peu de la masse de l'œuf. Cette membrane est constituée au moins de deux parties. Une partie extérieure a absolument le même indice de réfraction que l'eau. Aussi ne parvient-on à la mettre en évidence qu'en plaçant les œufs dans un liquide comme l'encre de Chine. Elle a une épaisseur sensiblement égale au rayon de l'œuf. La deuxième est très mince et plus réfringente. Elle se voit à la limite interne de la première. Ces deux membranes s'opposent au gonflement de l'œuf. Il se fait ainsi que, quand la turgescence de ce dernier augmente beaucoup, la membrane, plutôt que de se laisser distendre, se déchire à un ou plu-

sieurs points de la surface et que le contenu de l'œuf se répand au dehors en une ou plusieurs hernies. Ces dernières sont qualifiées par Lœb du nom d' »extraovat «.

Lœb augmente la turgescence de l'œuf en le plongeant dans un milieu moins osmotique que l'eau de mer. Le mélange employé par Lœb contient de l'eau de mer et de l'eau distillée en parties égales. On obtient les hernies en plongeant les œufs dans ce mélange 15 minutes après la fécondation. A ce moment, le noyau n'a pas encore disparu. Nous avons observé que les extraovats se produisent à peu près également bien pendant tout le temps qui s'étend entre 7 et 40 minutes après la fécondation.

Les hernies ne se forment pas toujours avec la même facilité. Nous avons eu sous les yeux des pontes qui n'en donnaient pas, quoique les membranes fussent très nettes. Ces œufs se sont d'ailleurs régulièrement développés dans la suite après qu'ils ont été replacés dans l'eau de mer normale. Nous avons aussi constaté que certaines pontes ont une tendance prononcée à produire des extraovats bien pédicellés, tandis que dans d'autres pontes les extraovats tiennent à l'œuf par une surface beaucoup plus large. Nous ne sommes pas parvenu jusqu'à présent à nous rendre compte de la raison de ces différences.

Les œufs restent dans l'eau de mer mélangée d'eau douce jusqu'à ce que les extraovats se soient développés sur un grand nombre d'entr'eux. A ce point de vue encore, les diverses pontes ne se montrent pas égales. Dans certaines d'entr'elles, on les obtient après 7 minutes. D'autres attendent 20 minutes sans subir de changements. D'ordinaire après 20 minutes, le résultat est atteint.

Les œufs ainsi modifiés sont reportés dans l'eau de mer, où ils se comportent de *trois* façons différentes.

1° Ou bien ils restent comme tels et subissent le développement, comme nous le décrirons plus bas.

2° Ou bien les extraovats se détachent de l'œuf, et dans ce cas il est possible de séparer les deux parties et de les étudier à part dans deux godets différents. Quand les œufs étaient bien pédicellés, nous les avons parfois isolés et avons provoqué *ensuite* une telle séparation.

3° Il arrive souvent que, quand on a remis dans l'eau de mer un lot d'œufs bien réussis, on est tout étonné de constater qu'après fort peu de temps les extraovats sont rentrés dans la limite de la membrane de l'œuf. Quand ce fait se présente pour un lot d'œufs, il se présente aussi dans tous les œufs provenant du même ovaire. Nous avons observé une rentrée pa-

reille sous l'immersion 2 mm. O. N. 1,30, ocul. 12 Zeiss. Les deux parties de l'œuf avaient sensiblement les mêmes dimensions et étaient entourées de spermatozoïdes. On voyait les granules passer à travers le pédicelle très mince. Après une quinzaine de minutes, toute la masse de l'extraovat avait réintégré la membrane de l'œuf. Nous avons vu passer le noyau par ce faible pédicelle. A un certain moment, il affectait la forme d'un 8 de chiffre. Fait intéressant : les spermatozoïdes étaient restés en arrière et circonscrivaient après la disparition de l'extraovat l'espace occupé primitivement par lui. Ceci prouve que ces spermatozoïdes n'avaient pas contracté de contact intime avec l'extraovat. Peut-être étaient-ils engagés dans la membrane gélatineuse distendue de l'œuf.

Dans tous les essais que nous avons faits, nous avons toujours établi deux témoins : 1° une partie des œufs restait non fécondée, et 2° une partie des œufs fécondés était laissée dans l'eau de mer normale. Il faut dire deux mots de ces témoins avant de donner le résultat des expériences sur les œufs traités par l'eau de mer diluée.

1° Dans le lot des œufs non fécondés, nous n'avons jamais trouvé de développement. La parthénogénèse normale était donc nulle. Nous avons d'ailleurs fait, lors de notre séjour l'année passée à Naples, de nombreux essais de parthénogénèse artificielle tant sur les *Arbacia* que sur la plupart des autres formes d'échinodermes mûrs de la baie de Naples : *Echinus*, *Sphaerechinus*, *Echinocardium*. Tous ces essais sont restés infructueux. Ce fait mérite une attention spéciale et prouve qu'il y a dans la parthénogénèse artificielle un facteur qui nous échappe encore. Nous avons employé successivement toutes les méthodes classiques employées dans ce but par Lœb (1899, 1900), Morgan (1894, 1899), Mead (1898), Delage (1901, 1902), Kostanecki (1902), M. H. Fischer, etc., et d'autres méthodes, tant physiques que chimiques. De plus, nous nous sommes conformé aux indications qu'ont bien voulu nous fournir plusieurs des maîtres de l'embryologie expérimentale que nous avons eu le bonheur de trouver à la Station zoologique. Nous tenons aussi à dire que pendant les six premiers mois de l'année 1903 personne n'est parvenu à la Station à répéter ces expériences, qui réussissaient admirablement d'autres années. Toutes les tentatives sont restées infructueuses tant avec de l'eau de mer du laboratoire qu'avec de l'eau que le personnel prenait journellement dans ce but à une grande distance de la côte. Ces insuccès ont quelque chose de bien étonnant et nous montrent à l'évidence que le dernier mot n'est pas dit sur la parthénogénèse expérimentale.

Le fait que tous nos témoins non fécondés sont restés inertes et qu'aucun d'eux ne se soit développé prouve aussi que les précautions minutieuses prises par les auteurs pour éviter la fécondation lors de ces sortes d'expériences sont superflues et la réalité de ces développements parthénogénétiques en reçoit une sérieuse confirmation.

2° Nos témoins fécondés mais non traités par l'eau hypotonique réclament aussi un moment notre attention. Ils se sont, en effet, montrés en général moins féconds que les œufs traités par la méthode de Lœb. Dans un de ces essais du 4 juin entr'autres, 55 % des premiers s'étaient développés et 31,5 % seulement étaient arrivés au stade de quatre blastomères, tandis que des œufs traités par l'eau de mer hypotonique 64,5 % ont subi un développement normal. Cette constatation a été souvent répétée.

§ 2. Place occupée par le noyau dans les œufs à hernie.

Les œufs d'*Arbacia* sont remplis de granules plus ou moins colorés en rouge-sang. Aussi, tandis que dans l'œuf d'*Echinus* on peut poursuivre sur le vivant les principales phases de la première segmentation, cette observation est absolument impossible dans l'*Arbacia*. On reconnaît aisément les œufs non mûrs à cause de leur vésicule germinative très grande, mais dans les œufs mûrs, ayant expulsé leurs globules, il est très difficile de retrouver le pronucleus femelle sur le vivant. Cette circonstance est très malencontreuse et rend l'observation des détails des premières segmentations très pénible. Aussi ne peut-on affirmer sur des œufs frais quel est le sort du noyau pendant le séjour dans l'eau hypotonique. Sur les objets fixés, on trouve ce qui suit.

Le *noyau* peut occuper *trois situations* :

1° Il peut rester dans l'œuf, qu'on reconnaît facilement à sa membrane un peu ratatinée et plus nette.

2° Il peut aussi se trouver dans l'extraovat et ceci peut se présenter aussi bien quand cette partie a la même dimension que l'œuf que quand elle est moins grande, FIG. 1, PHOT. 1. Nous pensons que, quand les extraovats ont bien réussi, ces deux cas se présentent en nombre sensiblement égal. Dans une de nos préparations, sur 57 œufs dont on pouvait voir le noyau, il s'en trouvait 10 dont l'œuf et l'extraovat étaient ensemble dans la même coupe ; 5 d'entr'eux étaient dans le premier et 5 dans le second cas.

Nos notes du 10 juin portent d'autre part que les extraovats, très grands et bien nettement étranglés ce jour-là, renfermaient presque tous une tache blanche qui, à en juger d'après le développement ultérieur, constituait le noyau des œufs.

3° Enfin, il arrive aussi que le noyau se trouve exactement à l'endroit du pédicelle, FIG. 2, et dans ce cas il peut être coupé en deux, lors de la séparation des deux parties de l'œuf. Nous avons vu ce cas réalisé cinq fois dans nos préparations fixées à ce stade. Nous n'avons pu poursuivre le sort des deux parties de l'œuf dans un tel cas. On pourrait se demander si on n'obtiendrait pas des résultats analogues à ceux décrits par M. STEVENS dans son étude sur l'œuf de l'*Echinus microtuberculatus*. Avec l'*Arbacia*, cette recherche est rendue presque impossible à cause de la coloration rouge qui masque la structure interne de ces œufs.

§ 3. Segmentation dans des œufs à hernie.

1. Que deviennent les deux parties d'un œuf à hernie quand le pédicelle s'est rompu?

Une des premières questions qui se posent après ce que nous venons de dire est la suivante : *que deviennent les deux parties d'un œuf à hernie quand le pédicelle s'est rompu et que par conséquent l'extraovat s'est séparé de l'œuf?*

1° *La partie non nucléée peut-elle être fécondée?*

Voyons d'abord si *la partie qui ne renferme pas de noyau serait capable d'être fécondée*, comme cela a été fait par BOVERI, DELAGE, MORGAN, et après eux par plusieurs autres pour des morceaux d'œufs obtenus par section ou par agitation avant la fécondation.

Nous ne parlons ici que des œufs isolés dans des godets en verre et dont l'évolution a été poursuivie au microscope. Après que les œufs étaient sortis de l'eau hypotonique, nous les avons remis dans de l'eau de mer normale. Puis nous avons mis à part des œufs nettement pédicellés et nous avons séparé l'œuf de son extraovat. Cette séparation se fait souvent sans qu'on intervienne, immédiatement au sortir de l'eau hypotonique. Souvent aussi un petit attouchement suffit pour l'opérer. Mais il arrive aussi qu'il est presque impossible de la réussir.

Quand ces séparations se font bien, ce qui arrive souvent, on voit presque toujours que l'un des deux fragments renferme une vésicule claire, que nous considérons comme le noyau de l'œuf. C'est ce fragment qui entre en division, comme nous le verrons tout à l'heure. L'autre ne se développe pas malgré la présence de spermatozoïdes bien vivants. Ce résultat concorde avec ceux de Delage (1901) et Wilson (1903). Nous nous trouvons ici, en effet, à un stade qui correspond à la deuxième période critique de Wilson dans les œufs du *Cerebratulus lacteus*. Ce fait prouve que le protoplasme cellulaire subit une modification sous l'influence du spermatozoïde. Cette modification rend le développement d'un nouveau spermatozoïde impossible. On peut traduire ce résultat en disant que *ce n'est pas seulement le noyau qui se trouve fécondé par le spermatozoïde, mais aussi le protoplasme de l'œuf*. Cette conclusion est conforme à celle à laquelle sont parvenus Carnoy et Lebrun (1898) après une étude purement anatomique sur l'œuf de l'*Ascaris megalocephala*.

2° *Sort des deux parties de l'œuf après leur séparation.*

Voyons maintenant *ce qu'il advient des deux parties de l'œuf après leur séparation*.

Dans tous les essais que nous avons faits, il n'est arrivé qu'une seule fois que les deux moitiés de l'œuf se sont segmentées et il s'agissait d'un œuf qui n'avait été séparé de son extraovat qu'une vingtaine de minutes après avoir été remis dans l'eau de mer. Dans tous les autres cas, ou bien ni l'une ni l'autre des deux moitiés ne se sont mises en mouvement, ou bien une partie seule a subi la segmentation. Nous ne pouvons pas dire exactement combien d'œufs séparés ont été ainsi étudiés, mais nous estimons que nous en avons eu une cinquantaine. Dans tous ces cas, c'est l'extraovat qui s'est développé. L'œuf, d'abord détaché de sa membrane et ratatiné à l'intérieur de cette dernière, reprenait d'ordinaire sa forme normale après une heure à peu près. Pendant ce temps, l'extraovat, qui était resté turgescent, s'était segmenté et on trouvait un noyau dans chacun des deux blastomères formés. Il se reformait deux fuseaux suivis bientôt de deux étranglements donnant naissance à quatre blastomères avec leurs noyaux. Jusqu'ici tout semble assez normal et on pourrait croire que ces formations donneront des blastules, des gastrules, voire même des larves pluteus d'après la masse de l'extraovat. Il n'en est rien. Bientôt les divisions deviennent très irrégulières. Les cellules formées ne restent pas accolées en une masse. Elles forment souvent une file plus ou moins en zig-zag. Puis les noyaux n'entrent

plus en mouvement et le protoplasme des blastomères continue à s'étrangler par un procédé analogue à la formation des pseudopodes à la surface d'une amibe. Enfin, après quelques heures, toute la masse des blastomères formés ou au moins une grande partie d'entre eux est tombée en une poussière très fine formée de petits globules ronds, qui ne conservent pas de rapports entre eux, FIG. **3** et **4**.

Nous ne voulons pas déduire de ces faits des conclusions trop hâtives, mais il nous semble utile de faire remarquer déjà ici la grande différence qui existe entre le développement des *deux premiers blastomères* séparés après leur constitution normale et le développement des *deux parties* de l'œuf séparées par la méthode de LŒB.

Dans le premier cas, l'un quelconque des premiers blastomères peut se développer à part lui et former une larve qui ne diffèrera des pluteus normaux que par ses dimensions. Dans le cas qui nous occupe, au contraire, le développement ne va pas même jusqu'à la morule. Nous nous sommes demandé si la cause de cette différence n'est pas à chercher dans la disproportion qui existe entre la masse nucléaire et le protoplasme qu'elle domine. Mais il nous a semblé que cette explication ne tient pas devant les expériences comme celles de STEVENS (1902) et WILSON (1903). Remarquons qu'une des principales différences qui existent entre la méthode de division de l'œuf par section au scalpel (méthode des auteurs précités) et la division par extraovat se trouve dans ce fait que dans la première de ces divisions toutes les parties de l'œuf gardent leurs rapports de situation, tandis que dans la deuxième méthode ces rapports sont profondément modifiés. BOVERI (1901) a d'ailleurs démontré que l'œuf de certains échinides possède une organisation et une polarité anatomique qui détermine la polarité de l'embryon.

On pourrait nous objecter que les conditions dans lesquelles ces œufs se sont développés étaient défavorables et qu'un plus grand nombre d'expériences prouveraient que la partie nucléée de l'œuf peut se développer normalement. Nous répondons par une observation souvent répétée dans des cultures qui pour le reste se développaient normalement et qui renfermaient aussi des œufs et des extraovats séparés; ces derniers se comportaient absolument comme ceux que nous avions isolés dans des godets spéciaux pour les soumettre à une étude plus rigoureuse. Il *faut* donc en tous cas *admettre que les deux parties d'un même œuf ne se développent pas normalement dans les conditions qui permettent un développement normal aux œufs non traumatisés.*

Ces résultats sont notés ici pour la première fois. LŒB n'en parle pas.

II. Comment se forment les premiers blastomères quand l'œuf continue à adhérer à l'extraovat.

Examinons à présent *comment se forment les premiers blastomères dans le cas où l'extraovat continue à adhérer à l'œuf.*

Cette question se subdivise.

On peut, en effet, se demander : 1° *dans quelle direction se produit le premier fuseau de division?*

Ici nous croyons pouvoir affirmer que nous sommes d'accord avec Lœb, si nous en jugeons par les fig. 4, 5, 6 et 7 de son travail de 1895. Nous avons, en effet, constaté que cette direction est quelconque par rapport à la place occupée par l'extraovat. Lœb n'émettait pas à ce sujet la même opinion dans son premier travail (1893). Il y dit, en effet, à la p. 51 : « .... the cleavage plan being always at right angles to the common diameter of the two protoplasmatic drops. »

Rawitz (1895) semble être du même avis. Cet auteur a tenté des expériences de contrôle de celles de Lœb.

Il a malheureusement opéré sur une autre espèce que le savant américain. Il emploie les œufs de *Strongilocentrotus*. D'après lui, « beaucoup d'œufs, formant un extraovat, se perdent, parce que la substance interne de l'œuf se répand au dehors. Quand l'extraovat réussit, il est toujours plus grand que l'œuf; de plus il ne reçoit jamais le noyau, qui reste donc toujours dans l'œuf. Ce dernier, au sortir de l'eau hypotonique, est beaucoup plus petit que la cavité limitée par la membrane qui le contient. Bientôt, cependant, il reprend et finit par occuper tout l'espace que l'œuf entier remplissait. La direction du premier fuseau qui se forme dans l'œuf est normalement celle de l'extraovat. Quand sa direction est oblique à droite ou à gauche, l'extraovat reçoit un noyau, mais le développement ne va pas plus loin. L'extraovat, en effet, dans ce cas, tombe et l'œuf lui-même périt. — Si l'extraovat est sur le prolongement de la *erste meridionale Furche*, il se sépare et l'œuf continue à se développer. Cette séparation s'effectue avant la segmentation, mais après la formation du fuseau. » — L'auteur conclut en disant que l'œuf peut se développer quand il a perdu une partie de sa substance. Ce résultat, dit-il, est contraire à la théorie de la préformation de Weesman.

C'est ainsi que nous résumons ce petit travail, qui manque de clarté. Nous n'oserions pas prétendre que nous avons bien saisi la pensée de l'auteur.

Nos FIG. **5** à **11** donnent une idée de la direction très variable de la première segmentation.

2° *Comment se comportent les noyaux des premiers blastomères?*

Nous avons déjà fait remarquer qu'il est difficile de se rendre compte du sort des noyaux dans les œufs de l'*Arbacia*. Toutefois, nous pouvons dire que, quand les bourgeons ne sont pas trop nettement pédicellés et que nous n'entrons pas dans le cas traité précédemment, l'extraovat reçoit de la nucléine pendant les premières segmentations. Parfois la première segmentation lui donne déjà un noyau. C'est le cas pour les œufs des FIG. **5** et **6**. *Il n'arrive presque jamais cependant que les deux premiers blastomères correspondent de cette façon à l'œuf et à son extraovat.* De plus, ce cas ne se présente que quand le pédicelle est large et nous verrons plus tard que dans ce cas il y a toujours *régulation postérieure* et production d'une larve unique plus ou moins déformée.

On peut dire, sans crainte de se tromper, que *quand le pédicelle est net et se maintient comme tel, ni l'un ni l'autre des noyaux de la première figure n'entrent dans la partie de l'œuf ne renfermant pas primitivement le noyau*, FIG. **7**, **8**, **9**. Dans certains cas cependant, il arrive, FIG. **9**, que la première segmentation produit son effet sur les protoplasmes des deux parties. Ce ne sera que lors d'une des segmentations postérieures cependant qu'un fuseau pourra se former, de telle façon qu'un noyau soit porté dans la partie, œuf ou extraovat, qui n'en renfermerait pas encore. Ceci pourra se produire dans certains cas lors de la deuxième segmentation, FIG. **10**, *B*, et **11**, *B*, ou bien plus tard encore.

Il est très visible que l'extraovat constitue très rarement une partie correspondant exactement à l'un des premiers blastomères; ainsi dans la FIG. **7**, il en constitue la grande moitié et dans la FIG. **8**, la petite. Dans le cas de la FIG. **11**, *B*, l'extraovat comprend une petite partie d'un des blastomères, 1/4, et une grande partie d'un autre. Nous ne nous trouvons donc pratiquement jamais dans les cas des auteurs qui ont étudié ce qu'il advient des premiers blastomères séparés par des méthodes mécaniques ou chimiques : DRIESCH (1893), FIEDLER (1891), DRIESCH (1900), ZOJA (1895). Dans ces travaux, les auteurs recherchent ce qu'il advient quand on isole un blastomère, 1/2, 1/4, 1/8, etc.; tandis qu'ici il faudrait se demander ce qu'il ad-

viendrait dans le cas de l'isolement d'une partie pouvant correspondre à 1/2 plus une fraction qui peut ne représenter ni 1/4, ni 1/8, ni 1/16, ni etc. et que nous appellerions volontiers une partie incommensurable du futur embryon. Il faudrait bien plutôt se demander ce qu'il adviendrait d'une partie qui correspond par exemple à 3/4, 3/8, 5/8, 7/8, etc., d'un embryon. Cette question n'est pas résolue jusqu'à présent que nous sachions. Tout au plus pourrait-on rappeler ici le beau travail de CHABRY (1887) et les travaux de contrôle de DRIESCH (1895) et CHAMPTON (1897). Il faut toutefois remarquer que, dans les cas de CHABRY et de KOPSCH (1900), les débris des blastomères coupés restent à côté des cellules saines, tandis qu'ici les parties enlevées par la hernie ne peuvent plus influencer le tout ni comme matière nutritive ni d'aucune autre façon.

§ 4. Sort ultérieur des deux parties de l'œuf.

Après ce que nous venons d'écrire, il ne reste plus qu'à examiner le cas où les deux parties de l'œuf restent adhérentes après les premières segmentations. Le sort ultérieur de tels œufs dépend de la profondeur de la pédiculisation de l'extraovat.

La chose ne laisse pas de doute pour nous. De deux choses l'une : *ou bien la surface de contact est grande* et dans ce cas il ne se forme qu'une seule blastule où une régulation intervient au plus tard au moment de la gastrulation; *ou bien la surface de contact est faible* et dans ce second cas les deux parties se séparent au moment de la formation de la blastula et les deux parties continuent leur évolution indépendamment l'une de l'autre. Jamais dans ce cas la plus petite des deux parties n'arrive jusqu'au stade pluteus, quoiqu'elle puisse survivre longtemps à cette séparation tardive.

I. Embryons fort étranglés.

Examinons quelque peu en détail les deux cas que nous venons de résumer.

Les FIG. **12**, **13** et **14** représentent des embryons *très étranglés*, à des âges différents. Ces embryons ont été isolés de bonne heure d'une culture qui a donné des hernies bien pédiculisées et dont beaucoup d'œufs se sont développés. A mesure que le développement avance, la hernie s'étrangle de plus en plus et la séparation ne s'opère d'ordinaire que quand on peut déjà très bien voir la cavité des blastules.

DRIESCH (1895) a coupé des blastules à ce stade, c'est-à-dire au moment

où, se dégageant de leurs membranes, elles se mettent à nager dans le milieu et il trouve que beaucoup d'entre elles se reforment. Il en conclut que les cellules des blastules des échinodermes possèdent des « puissances prospectives » égales. La blastule des échinodermes est donc, d'après ces travaux, un « système harmoniquement équipotentiel ». Dans le cas qui nous occupe, il ne semble pas en être ainsi.

Il dérive de tels embryons deux parties qui, dans tous les cas que nous avons observés, étaient très inégales. La plus petite peut être ou bien une masse cellulaire sans cavité, ou bien une blastule. D'ordinaire, son développement s'arrête là. Il est arrivé de très rares fois que cette partie a gastrulé, mais jamais le développement n'a été poussé plus loin.

La partie la plus grande se gastrule presque toujours [1], mais les gastrules sont généralement asymétriques et se présentent comme s'il leur manquait une partie, Schéma 1. De plus, dans leur mouvement, elles tournent autour d'un axe qui ne coïncide pas avec l'axe de l'archentéron. Quand elles arrivent à donner une larve pluteus, cette dernière est souvent asymétrique aussi. C'est ainsi que nous en trouvons qui n'ont qu'un bras, Schéma 2. D'autres sont déformées d'une manière différente. Leurs bras sont parfois très rapprochés et parallèles; d'autres fois, au contraire, ils sont raccourcis et forment un angle très obtus. On dirait que dans le premier cas, Schéma 3, la masse enlevée par la hernie appartenait à la partie située en *a*, par exemple, tandis que dans le deuxième une partie aurait été enlevée en *p*, Schéma 4. Ces larves traumatisées ne renferment souvent qu'un squelette rudimentaire, Fig. 15, et sont toujours plus petites que des larves normales [2].

Schéma 1.

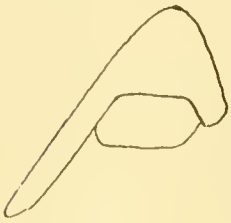


Schéma 2.

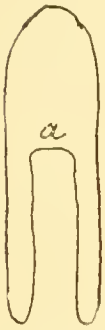


Schéma 3.

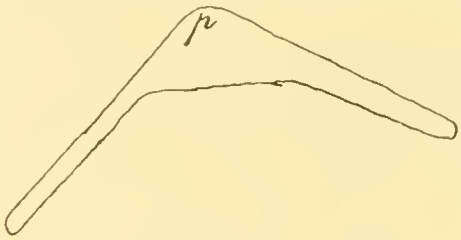


Schéma 4.

Nous sommes donc en droit de conclure que, par *le fait de la formation d'ex-*

[1] Nous ne pouvons pas dire si le cas de non-gastrulation de la partie la plus grande correspond au cas de gastrulation de la plus petite.

[2] Ces faits ont été surtout étudiés dans des cultures du 11 juin 1903 sur des œufs bien pédiculisés et mis à part dans des godets. De nombreux croquis ont été pris le lendemain au matin et après-midi.

traovats, l'œuf d'Arbacia a subi une modification dans sa structure, qui rend la régulation ultérieure ou beaucoup plus difficile ou même impossible. Dans ce cas donc, la blastule ne constitue pas un système harmoniquement équipotentiel.

Il est possible que cela tienne, comme nous l'avons déjà insinué, au fait que les rapports de situation entre les diverses parties de l'œuf sont profondément modifiés par la méthode de Lœb. Une remise en ordre des diverses parties ainsi tiraillées semble devenue impossible. Nous estimons que nous nous trouvons ici dans un cas analogue à celui des œufs de grenouille maltraités par la centrifuge. O. Hertwig (1897) constate que de tels œufs fournissent souvent des embryons déformés. Ici aussi, l'ordre entre les diverses parties de l'œuf a été trop profondément modifié pour qu'une régulation ultérieure puisse en avoir raison.

II. Embryons peu étranglés.

Si les surfaces de contact entre les deux parties de l'œuf sont assez grandes, il se produit le plus souvent des larves déformées. Il peut cependant se faire que l'étranglement soit si peu prononcé, fig. **20**, que la larve pluteus semblera à peine anormale.

Les déformations sont le plus généralement de deux genres assez bien distincts. — Ou bien elles se rapprochent du Schéma **5**; la trajectoire que suivent ces larves en nageant est un hélicoïde à tours de spire plus ou moins larges. De telles larves donnent des pluteus plus ou moins déformés et souvent arrêtés dans leur développement, fig. **21**. — Ou bien elles se rapprochent, quoique moins fréquemment, du Schéma **6**. Ces dernières larves s'arrêtent à cette forme gastrule. Jamais nous ne leur avons vu de squelette calcaire, fig. **22**.

Schéma 5.

Schéma 6.

Il résulte encore de ces observations que les phénomènes de régulation sont supprimés ou au moins entravés par la formation des extraovats. Nous l'avons vu, la hernie se forme à n'importe quel point de la surface de l'œuf par rapport à l'axe du futur embryon. De même l'une partie quelconque de l'embryon se trouve déformée par l'étranglement. Ce dernier ne disparaît pas et l'embryon n'est pas capable de prendre une position telle que l'extraovat ne le gêne pas dans son évolution.

§ 5. Se forme-t-il parfois des larves jumelles?

Jamais, dans les expériences bien menées, c'est-à-dire quand les œufs ou les jeunes embryons ont été isolés, nous n'avons observé de formations jumelles. Dans un des essais du 15 juin, tous ou presque tous les œufs à hernie bien formée se sont developpés. Les premiers stades du développement représentent typiquement ceux de Lœb (1803), fig. 4, 5, 6 et 7, et nos fig. 5 jusqu'à 18. Le lendemain, nous avons trouvé des embryons séparés en deux (§ 4, I) et d'autres irrégulièrement développés (§ 4, II), mais il n'y avait aucune larve jumelle. Ce résultat est absolument en opposition avec celui de Lœb. Nous y reviendrons dans la deuxième partie de ce travail.

Il semble étonnant que des larves doubles ne puissent se former à l'aide de la méthode de Lœb. En effet, des procédés analogues employés par Herlitzka (1896-1897) et H. Spemann (1901), etc. sur les batraciens, Bataillon (1901) sur les poissons, Wilson (1893) sur l'*Amphioxus*, et H. Driesch (1892, 1896) sur les échinodermes, ont produit entre les mains de ces auteurs des larves jumelles.

Nous ferons cependant remarquer que dans *aucun* de ces cas l'œuf n'a été déformé *avant* la première segmentation. Par conséquent, aucun d'entre eux n'est strictement comparable au cas qui nous occupe. Il ne sera pas inutile de remarquer que l'œuf est particulièrement sensible à beaucoup de modifications à cette époque de son développement.

Si on y regarde de plus près, on remarquera que seul le procédé de Bataillon a de l'analogie avec la méthode de Lœb. Bataillon opère sur des poissons d'eau douce. Il plonge leurs œufs dans des solutions hypertoniques. « Dans des conditions mal définies, les œufs de petromyzon subissent « la blastotomie originelle spontanée qui a permis de suivre le développe- « ment de larves jumelles depuis la première segmentation jusqu'à l'éclo- « sion » (p. 3). L'auteur opère d'après deux méthodes différentes : ou bien il féconde les œufs, les laisse se développer pendant deux heures et puis les porte dans divers liquides hypertoniques; ou bien il porte les œufs dans ces solutions avant la fécondation. La première de ces deux méthodes serait la seule comparable à celle de Lœb. Remarquons toutefois qu'il s'agit de solutions hypertoniques qui donc 1° enlèvent de l'eau à l'œuf, et 2° conservent sensiblement les rapports des diverses parties de l'œuf entr'elles.

Herlitzka et Spemann se sont servis d'une méthode qui est comparable à celle de Lœb dans ce sens qu'ils divisent l'embryon en deux par un étranglement. Mais nous ferons observer 1° que cet étranglement se fait après la première segmentation et que par conséquent il n'est pas absolument comparable à celui dont il s'agit dans ce travail, puisque celui-ci se fait entre la fécondation et la première segmentation; 2° que cet étranglement se fait par une méthode physique, par un fil ou un cheveu, tandis que la méthode de Lœb peut modifier considérablement le chimisme de l'œuf par une introduction considérable d'eau dans son protoplasme; et enfin 3° que cet étranglement laisse toutes les parties de l'embryon bien en place, tandis que celui de Lœb dérange complétement les dispositions relatives des diverses parties du protoplasme et par conséquent se distingue par cela seul bien nettement des méthodes de Herlitzka et Spemann.

Pour ce qui regarde les méthodes de Edm. Wilson et H. Driesch, elles sont absolument différentes des nôtres. Ici il s'agit de séparation plus ou moins complète par agitation après la formation des deux premiers blastomères. Or, aussi bien dans l'*Amphioxus* que dans les échinodermes, il a été démontré que, quand ces premiers blastomères sont complétement séparés après une segmentation normale, ils sont capables, chacun à part lui, de produire un embryon entier. Il n'y a donc rien d'étonnant à ce qu'ils produisent des embryons jumeaux quand ils sont *presque* complétement séparés. Dans notre méthode, les deux parties qui se trouvent séparées par la hernie *ne correspondent* pratiquement *jamais aux deux premiers blastomères*. Les cas ne sont donc guère comparables, il faut le reconnaître.

Nous ferons cependant remarquer que, même dans le cas de séparations *presque* complètes des deux premiers blastomères dans les échinodermes, ceux-ci, lors de leur développement ultérieur, ou bien par régulation primaire ou bien par régulation secondaire, perdent l'aspect de jumeaux qu'ils avaient à un certain moment et fournissent des larves bipinnaria (ou pluteus) presque typiques (Driesch, 1896, fig. 18, p. 266).

Cette observation extrêmement intéressante de Driesch montre que les descriptions que nous présentons ici sont plus conformes à ce qui s'observe normalement dans les échinodermes que celles de Lœb.

Nous répétons donc comme conclusion à cette première partie de notre travail que jamais nous n'avons observé la production de pluteus jumeaux aux dépens d'un œuf unique garni d'un extraovat. Ou bien ce dernier se détache à une époque plus ou moins avancée du développement et, dans

ce cas, si des larves se développent, elles semblent incomplètes; ou bien la hernie ne se détache pas, et dans ce cas il y a une sorte de régulation incomplète qui donne lieu à un embryon unique plus ou moins déformé.

Résumé du chapitre I.

1° Les extraovats produits par la méthode de Lœb ne persistent pas dans certaines pontes, mais rentrent dans l'œuf.

2° Les œufs traités par la méthode de Lœb se sont montrés en général plus féconds que les autres. Il semble impossible d'attribuer ce résultat à la parthénogénèse chimique, puisque cette dernière n'a pas réussi pendant notre séjour à Naples en 1903.

3° Quand l'œuf et l'extraovat sont séparés, seule la partie qui renferme le noyau se segmente; l'autre n'entre pas en mouvement et ne peut être fécondée par un nouveau spermatozoïde.

4° La partie qui se segmente n'arrive pas au stade de blastule. Elle tombe en poussière après avoir subi un nombre plus ou moins restreint de segmentations.

5° La direction du premier fuseau de division est quelconque par rapport à la ligne qui réunit l'œuf à l'extraovat.

6° Il n'arrive presque jamais que les deux premiers blastomères correspondent à l'œuf et à son extraovat.

7° Quand le pédicelle est net et se maintient, ni l'un ni l'autre des noyaux de la première figure n'entrent dans la partie de l'œuf ne renfermant pas primitivement le noyau. Ils peuvent y entrer lors de la 3e segmentation ou plus tard encore. (Voyez la discussion des résultats obtenus par les auteurs dans des cas comparables, p. 256-257.)

8° Le sort ultérieur de l'embryon dépend de la profondeur de la pédiculisation. Si elle est profonde, les deux parties se séparent au moment de la blastulation.

9° *L'une* des deux parties peut gastruler, mais elle donne toujours naissance à une larve traumatisée. La régulation n'est jamais complète.

10° Quand la surface de contact entre les deux parties est grande, la régulation n'est pas complète non plus et la larve conserve toujours l'empreinte de la déformation que l'œuf a subie.

11° Il ne se forme jamais de larves jumelles aux dépens d'*un* œuf et son extraovat (discussion des résultats des auteurs).

Chapitre II.

Masses plasmodiales dans les pontes de l'Arbacia.

§ I. Description de ces masses.

Il arrive souvent que dans les pontes de l'*Arbacia* on trouve à côté des œufs normaux des masses plus grandes. Ces masses sont parfois énormes par rapport aux œufs. Elles renferment des granules rouges, bruns ou noirs, de dimensions très diverses. D'abord, nous n'avions pas porté notre attention sur ces corps et nous les croyions simplement composés de la confluence d'un certain nombre d'œufs. On sait, en effet (H. Driesch, 1900), que dans certaines conditions et surtout après un séjour de 36 heures dans une cuvette remplie d'eau de mer les œufs de *Sphærechinus* non fécondés peuvent confluer à deux, à trois ou à un plus grand nombre et constituer ainsi des masses plus ou moins grandes. Nous nous demandions donc si nous n'avions pas ici affaire à de telles masses. Et en effet, en y regardant de près, nous pûmes constater que, dans certaines pontes, on trouve des œufs quelque peu plus grands que les autres, peu granuleux, bien sphériques, très réguliers sur les bords et qui ressemblent absolument aux œufs conflués de Driesch (1903) que nous avons vus. Nous avons même essayé, mais sans succès, de produire artificiellement de telles soudures par une méthode analogue à celle de Driesch. Il faut d'ailleurs remarquer que ces œufs plus grands proviennent d'œufs ayant conflué dans l'ovaire, puisqu'on les trouve immédiatement après la ponte, ce qui nous met dans des conditions bien différentes de celles du savant allemand.

Mais il ne peut s'agir ici de telles formations. Les masses en question sont souvent beaucoup plus grandes et toujours plus granuleuses et plus irrégulières que les œufs dont nous venons de parler. De plus, elles présentent des particularités dignes d'être décrites.

Nous avons observé plusieurs de ces masses à l'immersion D* de Zeiss, et la fig. 23 donne une idée de ce qui s'observe à ce grossissement. Déjà à l'obj. A, oc. 4, on peut remarquer que ces masses sont frangées sur les bords. A l'immersion, ces franges se montrent formées par deux productions assez nettement distinctes. En *A*, on observe des formations analogues à des pseudopodes d'amibes.

Ce sont des éminences mammelonnées renfermant de rares vacuoles et

composées d'une substance hyaline. De ci et de là, on y trouve des aspérités filiformes. Ces dernières sont plus accentuées en *A'*. Tout cela est animé de mouvements amiboïdes et il faut vivement crayonner pour en fixer le contour à un moment déterminé. *A'*, *B* et *C* représentent trois stades différents de la même éminence. Parfois, des granules de la masse interne s'engagent dans la substance hyaline.

A d'autres endroits de la surface *A''* et parfois sur la surface presque entière de ces masses, on trouve des filaments en palissade presque égaux de longueur et qui semblent réunis par une substance mucoïde en lamelles.

On trouve des formes de transition entre ces deux aspects.

De plus, à l'intérieur de ces masses mêmes, on trouve des restes non équivoques d'œufs à tous les stades de développement et dans un état plus ou moins avancé de dégradation. Nous donnons à ces masses le nom de *plasmodiums syrphétiques* ou *syrphoplasmes* (1). On verra plus loin qu'elles méritent complétement ce nom.

Quand on maintient ces masses dans l'eau de mer, elles y vivent longtemps, mais elles sont tuées par le séjour dans l'eau hypotonique. Ou bien quand elles résistent pendant quelques minutes à ce traitement et qu'on y observe encore des mouvements, ces derniers cessent *en tous cas* dès que les masses sont reportées dans l'eau de mer normale.

§ 2. Origine des masses syrphétiques.

Nous fûmes longtemps perplexe quant à la signification à donner à ces masses. Un savant collègue auquel nous les avons fait voir à Naples n'hésitait pas à les considérer comme des parasites appartenant à la classe des rhizopodes.

Cette manière de voir nous a beaucoup souri pendant un certain temps et il n'est pas à nier qu'elle présente des côtés très captivants, mais nous ne pensons pas pouvoir nous y tenir et cela principalement 1° à cause d'observations faites sur les œufs vivants de l'*Arbacia* et de l'*Echinus miliaris*; 2° à cause de l'examen des coupes faites à travers les ovaires de ces animaux, ainsi que de l'*Asteracanthium rubens*.

Nous avons vu à plusieurs reprises que le protoplasme de l'extraovat est le siège de mouvements amiboïdes. Une de ces observations a été faite avec

(1) σύρφετος — déchet; σύρφος peut aussi avoir la signification de σύρφετος. LIDDELL and SCOTT : *Greek-English Lexicon*.

grande attention et à l'immersion (apochr. 2 mm., oc. 4) sur un œuf du 5 juin reproduit dans la FIG. **24**. Les FIG. *A*, *B* et *C* représentent les formes successives des pseudopodes de la surface de l'extraovat. Ces formations sont loin d'atteindre l'ampleur de celles des masses analogues à la FIG. **23**, mais leur existence et la similitude du procédé attirèrent notre attention déjà à ce moment.

De plus, nous avons déjà vu que les divisions qui s'observent dans les extraovats, qui se séparent de bonne heure de l'œuf, dégénèrent en mouvements amiboïdes.

Si ces masses étaient composées de tissus en dégénérescence de l'ovaire de l'*Arbacia*, nous ne devrions pas nous étonner si l'on pouvait y observer des mouvements analogues.

Depuis nous avons eu l'occasion d'observer l'*Echinus miliaris* de la mer du Nord à notre aquarium de l'Institut CARNOY pendant les mois de décembre 1903 et de janvier 1904.

Comme l'*Arbacia* en juin, l'*Echinus miliaris* en janvier est à la fin de l'époque de la maturité. Les animaux en question étaient bien vivants et quelques-uns ont été conservés pendant une semaine entière dans l'aquarium et ont donné des œufs capables d'un développement normal.

Quand on agite un morceau d'ovaire dans l'eau de mer, on y trouve, outre les œufs mûrs, des œufs jeunes et des masses plus ou moins informes.

Les *œufs jeunes*, non encore pourvus de leur épaisse membrane, produisent des pseudopodes parfois énormes et animés de mouvements amiboïdes très vifs, FIG. **25**. A côté de ces œufs, nous avons trouvé des masses plus ou moins analogues à celles que nous avons observées à Naples et pourvues comme ces dernières de filaments garnis de lamelles visqueuses, FIG. **26**, **27**, **28**, dans lesquelles il est souvent possible de reconnaître des œufs très jeunes, plus ou moins dégénérés, FIG. **27**, *A*.

La ressemblance entre ces deux sortes de formations est certainement remarquable.

Disons enfin que dans l'*Arbacia* comme aussi dans l'*Echinus* et encore dans l'*Asteracanthium*, tant sur le vivant que dans les coupes, on *ne* trouve ces masses *que dans les ovaires. Jamais nous ne les avons vues dans les gonades mâles.*

2° L'examen des coupes de l'ovaire de l'*Arbacia* prouve que les masses dont nous parlons sont presque toujours constituées de parties qui, pour la coloration et la forme, ressemblent à des tissus ovariens en dégénérescence.

Cette proposition se trouve démontrée par les coupes nombreuses que nous avons faites dans une certaine quantité d'ovaires. Il faut remarquer, avant de passer à leur description, que *seuls les ovaires d'animaux ayant à la ponte des plasmodiums syrphétiques ont montré ces aspects de dégénérescence.*

Dans les autres, on observe des *gonades* dont les parois sont *normales* et dont le PHOT. 2 fournit une image suffisante. On y voit un épithélium formant une mince membrane parsemée de noyaux aplatis. Vus à plat, ces derniers présentent une figure très reconnaissable. Ce sont parfois des noyaux circulaires pleins, mais le plus souvent ils sont profondément modifiés par des vacuoles plus ou moins grandes. Si la vacuole est unique et centrale, le noyau a la forme d'un anneau; si elle est excentrique, on voit une forme en fer à cheval. S'il y a deux vacuoles, on aura d'après leur disposition un **8**, un **E** ou un **S**, plus ou moins bien formés.

En dessous de l'épithélium, on trouve deux assises de fibres musculaires lisses, souvent en croix l'une par rapport à l'autre. Ces assises sont plus ou moins épaisses d'après les endroits.

Enfin, on trouve des œufs à tous les stades de leur développement, depuis les ovogonies extrêmement petites dont les noyaux ne sont pas plus grands que ceux de l'épithélium jusqu'aux ovocytes les plus avancés avec leur tâche germinative bien apparente et les œufs en cinèses de maturation. Après celles-ci, les œufs mûrs pourvus du pronucléus tombent dans la cavité de la glande.

Les ovaires qui ont fourni du syrphoplasme se présentent d'une façon très différente. Sur presque toute leur surface intérieure, les gonades sont garnies d'une sorte de plasmodium vacuoleux renfermant de petits noyaux, FIG. **29**, PHOT. **3**. Ce plasmodium se présente de deux façons différentes. Ou bien il ne renferme guère d'œufs ou de restes reconnaissables du tissu ovarien, PHOT. **3**; ou bien, et c'est le cas de loin le plus fréquent, on y reconnait des œufs à tous les stades de dégénérescence, FIG. **29**, *A*, PHOT. **4**. Dans ce dernier cas, on reconnait, le plus souvent, les œufs à leurs grands noyaux. Parfois, il ne reste de l'œuf que le noyau, PHOT. **4**, *n*. D'autrefois, les œufs sont complètement déformés, PHOT. **4**, *o*; ils sont devenus très granuleux et bientôt il ne reste plus des œufs que des masses sphériques plus ou moins intensément colorées, PHOT. **4**, FIG. **29**, *o'*.

Tous les tissus ovariens sont entrepris. Parfois, l'assise musculaire est complètement détruite, PHOT. **3**; parfois, elle est profondément attaquée sans

avoir disparu, PHOT. 4 et FIG. 29. L'épithélium est également entrepris, FIG. 29 et 30 en *E*.

Dans ces ovaires, des plasmodiums analogues se trouvent dans la lumière de la glande entre les œufs mûrs, PHOT. 5, FIG. 31, PL. II, et 32, PL. III, PHOT. 6 et 7. Ici encore, on trouve des plasmodiums ne renfermant aucun reste reconnaissable des œufs, PHOT. 5 et FIG. 31, *B*, et d'autres dont la masse fondamentale est bien identique, mais qui renferment des parties plus ou moins notables de tissu ovarien, PHOT. 6, 7, et FIG. 29, *B*.

L'origine commune de ces diverses formations saute aux yeux. De plus leur *identité* avec celle des *masses se trouvant parmi les œufs pondus* n'est pas moins certaine. L'examen de coupes faites à travers les pontes renfermant de telles masses ne laisse pas de doute à ce sujet; l'inspection des FIG. 29, *B*, et 32, entraînera aussi, pensons-nous, la conviction du lecteur. Dans les masses des pontes ayant passé par l'eau hypotonique et donc mortes, le nombre de noyaux plasmodiaux est devenu très restreint. Par contre, les restes d'œufs sont bien reconnaissables (voyez surtout les FIG. 33 et 75).

Il semble donc, d'après cette description, que le syrphoplasme dont nous avons parlé dérive de l'influence d'un plasmodium très vacuoleux sur le tissu ovarien. Ce plasmodium semble attaquer ce tissu par un procédé de digestion.

§ 3. Nature du plasmodium syrphogène.

On pourrait émettre de nombreuses hypothèses sur la nature et l'origine de ce plasmodium. Il y en a surtout deux qui se présentent à l'esprit. Ou bien 1° il s'agit d'un parasite analogue à une plasmodie d'amibes (ou à un myxomycète); ou bien 2° il s'agit d'un cas de phagocytose due à des cellules de l'animal lui-même. Il nous semble que la dernière manière de voir concorde le mieux avec l'ensemble des faits.

En tous cas, il faut admettre que cette phagocytose est due à des cellules étrangères à l'ovaire et qui s'y introduisent à travers la membrane. Nous trouvons, en effet, à l'extérieur de la gonade des plasmodies d'aspect granuleux, FIG. 34 et 35, garnies de pseudopodes, FIG. 34, et parfois d'un reste de pointes en filaments que la fixation a respecté, FIG. 35, *a*.

A certains endroits, ces plasmodies sont accolées à la surface externe de certains lobes ovariens, FIG. 37. On remarquera que le tissu de l'ovaire est relativement bien conservé, à la partie supérieure de la figure. En

bas, on trouve les membranes extérieures profondément attaquées. L'assise épithéliale est complétement enlevée et on trouve des noyaux épithéliaux dans la masse plasmodiale, FIG. 37, *e'*. Le revêtement musculaire est aussi entamé et les muscles sont digérés sur place, FIG. 37, *m'*. En *pl*, on voit au milieu du tissu ovarien des parties du plasmodium envahir l'ovaire.

Nous retrouvons absolument les mêmes faits dans les échinodermes de la mer du Nord. Dans les ovaires de l'*Asteracanthium rubens*, nous avons retrouvé au milieu de l'ovaire une masse vacuoleuse absolument analogue à celles du PHOT. 5 et des parties de la paroi entamées d'une façon toute semblable à la FIG. 29.

Dans ce même animal, nous trouvons aussi des cellules, ou bien isolées ou bien en très petits groupes, qui se présentent tout à fait comme des phagocytes. La FIG. 36[1] est une fidèle reproduction d'un tel groupe de cellules. On remarquera que certains globules, *gl*, ne renferment pas de granulations, tandis que d'autres, *gr*, en renferment beaucoup. Ces derniers sont fort gonflés par leur contenu. Ils peuvent se distendre davantage encore, *gd*.

Nous appelons l'attention du lecteur sur la similitude de cette production et de celle que nous avons dessinée en FIG. 35, et qui est prise dans l'*Arbacia*. Si l'expérience vient donc confirmer la théorie d'une phagocytose, qui serait à attribuer aux globules du sang de l'animal, nous ne devrions pas nous en étonner, car les figures que nous venons de décrire ne seraient pas différentes si elles étaient dues à cette cause.

Depuis, pendant les premiers jours du mois de février, nous avons observé les globules blancs de l'*Asteracanthium rubens*. La FIG. 36[2] représente quelques-uns de ces globules observés à l'objectif 1/12 à sec de KORISTKA. On remarquera que ces globules portent des pseudopodes de deux genres. Les uns sont arrondis, *c*; les autres, filiformes et souvent garnis de lames, sont très semblables à ceux qu'on observe dans le syrphoplasme de l'*Arbacia*.

Cette nouvelle observation donne une grande probabilité à l'hypothèse phagocytaire.

Dans l'*Echinus miliaris*, le phénomène va beaucoup plus loin et presque toute la cavité de l'ovaire se trouve envahie par du syrphoplasme renfermant de petits noyaux et des restes d'œufs à divers stades de dégradation. Tous les œufs mûrs et pourvus de membranes sont pour ainsi dire noyés dans cette masse.

Nous ne pouvons dire si ces masses jouent ici le même rôle physiologique que celles de l'*Arbacia*. Cette question nous occupe en ce moment.

Nous ajoutons que nous avons fait sur chacun des objets étudiés des essais de coloration par les méthodes bactériologiques et que nous n'avons pas trouvé de microbes dans le syrphoplasme. Nous sommes persuadé qu'il n'y en a pas.

Les productions que nous venons de décrire ne se présentent plus dans les *Echinus miliaris* et les *Asteracanthium rubens* à la fin du mois de février. A ce moment, les *Echinus* ne renferment plus d'œufs mûrs et les œufs non mûrs semblent avoir perdu leur propriété d'émettre des pseudopodes.

Il est donc très possible que les masses dont il est question ne se trouvent qu'à la fin de la saison; ce sont probablement des produits de déchet, résultat d'un nettoyage dû aux phagocytes et précédant la période de repos.

Résumé du chapitre II.

1° Nous pouvons affirmer avec certitude que les masses plasmodiales que l'on trouve dans les pontes sont en très grande partie composées de tissus ovariens plus ou moins profondément dégradés.

2° La plasmodie qui a digéré ces tissus est d'origine extraovarienne.

3° Il est probable que nous nous trouvons ici en présence d'un cas de phagocytose due aux globules du sang de l'*Arbacia*.

Chapitre III.

Production artificielle de larves géantes et monstrueuses ou larves oosyrphes.

§ I. Larves géantes dans les cultures.

Les masses animées dont nous venons de parler ne sont pas capables de développement. A plusieurs reprises, nous en avons isolé un grand nombre et nous les avons mises dans l'eau de mer normale au contact du sperme. Jamais, l'une quelconque n'a donné naissance à un embryon. Les spermatozoïdes avaient cependant pénétré en grand nombre dans ces produits de dégénérescence, comme on peut le voir dans la FIG. 32. Aucun d'entr'eux n'y a subi de modification ni avant ni après le séjour dans l'eau hypotonique.

Mais quand on laisse ces masses en présence des œufs portant des hernies, on trouve parfois, au milieu de pluteus plus ou moins normaux, des globes beaucoup plus grands, animés de mouvements souvent très vifs. Ces

productions peuvent être énormes et elles frappèrent immédiatement notre attention.

Ces larves géantes ne se trouvent jamais parmi les produits d'ovaires non atteints de dégénérescence. Par contre, on en trouve toujours dans les cultures qui renferment du syrphoplasme. Il est donc certain que la production de ces monstres est corrélative de la présence de ces masses. Nous donnons à ces monstres le nom de *larves oosyrphes*.

Voici à ce point de vue le résultat d'une expérience. Le 23 juin, nous tuons une dizaine d'*Arbacia* et nous les faisons pondre. Quatre pontes ne renferment pas de syrphoplasme; on traite à l'eau hypotonique; les œufs se développent, mais on ne trouve ni larves doubles ni géantes. Six des pontes renferment du syrphoplasme, elles donnent des larves oosyrphes. De ces dernières pontes, deux ne renfermaient que peu de masses plasmodiales; aussi les larves oosyrphes y étaient très rares; les quatre autres pontes qui renfermaient un grand nombre de masses ont donné beaucoup de larves oosyrphes, parmi lesquelles les plus grandes que nous ayons obtenues.

§ 2. Formation des larves oosyrphes.

Nous avons suivi l'évolution complète de quelques-unes de ces larves isolées quelques heures après le retour dans l'eau de mer normale.

A ce moment, on voit très clairement que plusieurs œufs différents sont venus s'accoler aux masses plasmodiales inertes. Ils proéminent à la surface de ces masses et leur donnent le plus souvent un aspect très irrégulier, FIG. **40**. Le plus souvent, les œufs sont au stade morula, FIG. **41** et **42**, et on peut voir que c'est par leurs hernies qu'ils se sont accolés au syrphoplasme, FIG. **41**. Cet aspect bossué se maintient pendant assez longtemps et l'ensemble ne se régularise plus ou moins que quelques heures avant que les masses oosyrphes se mettent à nager dans le liquide. A ce moment d'ordinaire, ces masses en mouvement sont très pigmentées et il n'y a pas moyen d'y distinguer aucune structure.

On peut alors les porter sous le microscope et les *immobiliser* à l'aide d'un *anesthésiant*. Celui qui nous a le mieux réussi est le chloroforme ou l'éther. Nous préparons une solution saturée de chloroforme dans l'eau de mer. Nous mettons ensuite la larve sur le porte-objet dans une goutte d'eau de mer normale et disposons de part et d'autre de cette goutte deux baguettes de verre étiré aussi fines sensiblement que l'épaisseur de la larve. Nous superposons un cover et nous ajoutons une goutte d'eau de mer chloro-

formée. Nous attendons ensuite et au bout d'un quart d'heure la larve est assez immobilisée pour qu'on puisse en prendre un croquis. Si tout se passe bien dans ces opérations délicates, on peut ensuite remettre la larve dans l'eau de mer, où elle revient à la vie au bout de fort peu de minutes.

§ 3. Leur développement.

L'ensemble des œufs à hernies et des masses syrphoplasmiques se développe et fournit des larves souvent d'une unité remarquable et de grandeurs très différentes. Elles s'éclaircissent en se développant et deviennent souvent absolument transparentes.

On peut les classer en deux sortes assez bien distinctes. Les unes sont *dépourvues totalement ou presque totalement de squelette*, FIG. **60** à **69**; *les autres portent un squelette plus ou moins développé*, FIG. **43** à **59**.

I. Larves oosyrphes sans squelette.

Parmi les premières, nous en avons trouvé dont le volume est à celui d'une gastrule normale comme 5, 7, 9, 13, 16... est à 1, FIG. **48**, **61**, **68**, **62**, **66**.

La larve monstre la plus grande que nous ayons obtenue était en volume à une gastrule normale comme 46 : 1, FIG. **65**.

Les larves deviennent rarement assez transparentes pour qu'on puisse y reconnaître et y dessiner l'*archentéron*. Nous avons pu en monter l'une ou l'autre. La larve qui a fourni la FIG. **62** est dans ce cas. Elle était particulièrement claire et vivace. Comme on peut le voir, son squelette est presque nul. Elle possédait des mouvements indiquant la présence de fibres musculaires. L'archentéron a pu être dessiné après fixation au liquide picro-acétique de BOVERI, coloration au para-carmin de MAYER et inclusion dans le baume de Canada. Il est aussi complet que celui des larves normales, FIG. **38**, **39**.

La larve, FIG. **61**, après avoir été dessinée aussi bien que le permettait la présence de nombreuses granulations jaunes, rouges et noires qu'elle renfermait, a été écrasée. L'archentéron a été ainsi isolé. Il se trouvait formé d'un sac musculeux présentant deux ouvertures. Nous ne pouvons dire avec certitude que ces dernières étaient en relation avec l'extérieur.

Le cas de la FIG. **60** est plus anormal. On reconnait à l'intérieur de cette larve monstrueuse un sac fermé ressemblant à l'estomac et qui n'est en relation ni avec l'une ni avec l'autre des deux invaginations *a* et *o*, qu'on trouve à la surface de la larve et que nous considérons comme correspondant à l'anus, *a*, et à la bouche, *o*, d'une larve normale. Peut-être que

la légère invagination en *b*, FIG. **62**, doit être regardée comme une bouche analogue avortée.

Parmi ces larves géantes ne portant pas de squelette, nous en trouvons en assez grand nombre qui ne présentent pas de trace visible d'intestin, FIG. **63**[1] et **63**[2] à **68**. Elles portent cependant toujours un anneau cilié souvent très actif. Il se peut que de telles larves résultent exclusivement de portions d'œufs provenant du pôle animal. Les expériences de DRIESCH sur le développement des blastomères 1/8 prouvent en effet que ceux qui ne forment pas de micromères et qu'il considère, à l'encontre des descriptions anatomiques de SELENKA, comme appartenant au pôle animal donnent des larves à cils très développés mais à tube digestif mal venu. Les vues de DRIESCH ont d'ailleurs été confirmées par un travail postérieur de MORGAN (1895). De plus, BOVERI (1901), dans une étude anatomique sur le *Strongylocentrotus lividus*, est parvenu, grâce à une bande annulaire noire que ces œufs portent aux environs d'un de leurs pôles, à orienter les gastrules par rapport aux embryons de 16 cellules et il a trouvé que l'orientation de SELENKA était fautive.

Les larves monstres sans squelette sont parfois très petites. Dans ce cas, il faut admettre, comme nous le montrerons à propos de l'histogénèse, qu'elles se forment à l'aide d'une ou plusieurs hernies et d'une masse anhiste de petite dimension. Une larve pareille du 19 juin montre un archentéron d'une simplicité remarquable, FIG. **64**.

Toutes ces larves sont pourvues de certaines *bandes ciliées*. L'une d'elles semble très constante et entoure complétement la larve comme un grand cercle, FIG. **60** et **61**, *c*. Nous pensons que cette bande correspond à celle qui, dans les pluteus normaux, garnit la crête des quatre bras. Elle est parfois très sinueuse, FIG. **62**, *c*, et remonte des éminences analogues à celles des bras d'un pluteus mais dépourvus de squelette.

Ces larves sont garnies d'un *épithélium* sur toute leur surface. Les cellules épithéliales sont très aplaties sur les surfaces glabres et leurs noyaux sont largement espacés. A l'endroit des cils, les cellules très petites se pressent les unes contre les autres et il en résulte souvent des bourrelets plus ou moins massifs, FIG. **61**, **62**, **65**, **66**.

Le tissu *mésoblastique* est formé de cordons plus ou moins nombreux, FIG. **61** et **63**.

C'est la première fois que l'on signale des larves d'échinodermes ayant l'origine, les dimensions et les caractères des larves monstres dont il est question ici.

II. Larves pourvues de squelette.

a) *Grandes larves.*

Parmi ces larves, on en trouve qui sont plus ou moins nettement doubles et d'autres dont l'unité est absolument remarquable.

Parmi les premières, nous signalerons particulièrement une larve jumelle que nous avons poursuivie à travers toute son évolution.

Deux œufs à hernie étaient accolés à une petite masse de tissu dégénéré. Nous les isolâmes le 15 juin. Ils avaient chacun absolument la même dimension que les œufs normaux ordinaires qui se trouvaient à côté d'eux et renfermaient absolument la même quantité de pigment. Le lendemain, nous pûmes trouver dans notre godet deux petits cônes triangulaires tournés l'un vers l'autre par une de leurs bases. Nous les mîmes entre lame et lamelle, mais nous n'en prîmes pas de croquis à ce moment de peur qu'en les tenant trop longtemps dans ces conditions défavorables, nous ne leur portions préjudice. D'ailleurs, ils ne portaient pas encore de squelette.

Le 19 juin, la larve jumelle était parfaitement développée et nous pûmes la dessiner, FIG. **43**. Les deux jumeaux étaient exactement aussi pigmentés l'un que l'autre et chacun d'eux avait un peu moins que la dimension des pluteus normaux de la ponte qui leur avait donné naissance.

Il est évident pour nous que ces jumeaux sont de même nature que ceux que LŒB a décrits comme provenant d'un œuf avec son extraovat. D'ailleurs, personne n'admettrait plus, après ce que nous venons d'écrire, que dans la FIG. 5, p. 385 de son travail de 1895, les quatre parties désignées par *a*, *b*, *c*, *d*, proviennent de l'œuf *c*. De plus, nous sommes persuadé que la masse figurée en *d* n'est rien autre chose qu'une petite masse syrphétique.

La larve jumelle, FIG. **45**, provient de trois œufs accolés à une masse syrphétique un peu plus grande. Elle a été isolée aussitôt l'accolement produit le 15 juin et a été dessinée le 20. Elle est franchement double quant à l'archentéron. Quant au squelette, elle est plus que double, mais pas triple cependant. De plus, les deux corps et les bras des deux individus le plus développés sont bien formés et leurs squelettes sont presque normaux.

Le monstre, FIG. **44**, provient de quatre œufs associés à du syrphoplasme. Son squelette est peu développé et on ne parvient pas à en identifier les parties. Nous y vîmes nettement deux archentérons avec leurs trois parties. Les deux estomacs étaient fort différents de grandeur. Leurs deux

gueules se trouvent entourées de bourrelets ciliés correspondant probablement aux bras. On suit très nettement les intestins. Nous ne pûmes trouver qu'un seul anus, mais nous croyons plus probable qu'il y en avait deux. En tous cas, l'intestin du jumeau *A* passait par la fine commissure le reliant à son compagnon *B* et l'anus observable *a* dépendait de ce dernier.

La larve, FIG. **46**, provient de deux œufs associés par leurs extraovats. Nous ne sommes pas parvenu à voir s'il y avait aussi une petite masse syrphétique entre les deux. Ces œufs ont été isolés. L'un d'eux s'est développé, l'autre est mort. On reconnait très bien à la partie gauche du dessin le reste de l'extraovat de l'individu développé. Nous ferons remarquer que ce dernier est sensiblement plus petit qu'un pluteus normal. Cette remarque a une grande valeur contre l'interprétation de LŒB. En effet, dans les dessins de larves doubles ou triples, on remarque que chacune des parties est aussi grande qu'une larve normale. Cela seul prouve à l'évidence qu'il s'agit d'une concrescence de plusieurs œufs et non d'un développement plus ou moins indépendant de deux parties d'un même œuf. Nous avons, en effet, remarqué dans la première partie et nous le répétons ici à propos de la FIG. **46** que l'une quelconque des parties d'un œuf se développant donne toujours naissance à une larve plus petite que l'œuf entier. D'ailleurs, cette conclusion se trouve d'accord avec tous les travaux faits sur le développement de blastomères isolés des échinodermes et en particulier avec le travail de DRIESCH (1900) à ce sujet.

Nous ferons de plus remarquer au sujet de cette larve qu'elle n'est nullement un pluteus normal plus petit que les autres, mais un pluteus monstrueux à plusieurs points de vue et principalement quant au squelette dissymétrique et aux bras beaucoup trop courts. Cette remarque prouve une fois de plus que *la division de la matière vivante* par formation d'extraovats ne peut pas être comparée à la séparation des deux premiers blastomères après une division normale. Il serait donc très dangereux de produire des considérations générales sur la *limite de la divisibilité de la matière vivante* en prenant ce procédé comme point de départ. Les deux parties séparées ne sont pas comparables à deux blastomères, elles ne parviennent pas à reconstituer deux individus possédant toutes les qualités du tout.

La FIG. **47** représente une larve provenant d'au moins deux œufs ou parties d'œufs (il a été impossible de voir si les extraovats ont participé à la formation de ce monstre) associés à une masse syrphétique assez grande. Il s'est formé un pluteus double quant aux archentérons et possédant un

demi-squelette *s* et un autre squelette *s'* complétement indépendant et qui représente plus d'un squelette entier. Les éléments squelettiques sont par rapport aux éléments comparables dans le rapport de 3 : 2 d'un pluteus normal. Cette larve est donc géante et on reste en dessous de la vérité en disant qu'elle a 4 fois le volume d'un pluteus ordinaire.

Bien d'autres larves géantes et monstrueuses doubles à des degrés variables ont été obtenues, mais plusieurs d'entr'elles étaient trop encombrées de pigment pour pouvoir être dessinées. D'autres se sont brisées dans les manipulations toujours délicates de leur isolement, anesthésie, fixation ou coloration.

L'une des plus belles larves que nous ayons obtenues est celle de la FIG. **49**. Son volume est *plus de* 10 *fois celui d'un pluteus normal.* L'archentéron énorme de cette larve est composé des trois parties normales et a presque la forme typique. Les parois de l'estomac étaient extrêmement épaisses. Quand à la forme, on remarque surtout la grosseur de l'ensemble et la dissymétrie des bras. D'un côté, le bras unique est effilé (ce bras est aussi long que celui de l'autre côté, mais il est vu en raccourci), de l'autre côté il est aplati. D'un côté, il renferme un squelette qui semble composé de deux éléments enroulés ou tressés ensemble, de l'autre côté les deux squelettes sont distincts. Cette larve a vécu dix jours, puis elle est morte.

La larve, FIG. **50**, a des proportions un peu plus faibles (7 fois le volume d'un pluteus normal). Elle offre aussi un exemple remarquable d'unité. Elle provient d'au moins deux œufs et d'un syrphoplasme assez volumineux.

Il existe aussi des larves très déformées et dont l'unité apparaît surtout dans l'archentéron. Telles sont les larves des FIG. **51**, **52**, **56**, **58**, **59**. Ces dernières constituent, pour ainsi dire, une étape de transition entre les larves à squelette et celles qui n'en portent pas. Les plus remarquables de ces larves sont celles des FIG. **52** et **59**.

La larve, FIG. **59**, a été suivie dans tout son développement et nous avons pris les dimensions de la masse oosyrphe le 15 juin, peu de minutes après leur formation. Les grandeurs relatives d'un œuf *d* de la ponte, de la masse *b* qui a donné la larve *c*, se trouvent figurées par des contours pris au grossissement obj. A, oc. 4 comp. On peut bien remarquer que les deux parties de la masse *a* conservaient au commencement une certaine indépendance. La soudure s'est faite dans la suite, de telle manière toutefois que la séparation entre les deux parties se remarque encore dans la larve achevée.

Malgré cela, il n'y a qu'un archentéron dont la bouche est entourée d'une bande préorale ciliée unique. Le squelette n'a été formé que dans la partie supérieure.

La FIG. **51** représente une larve dont nous n'avons pas trouvé l'anus, mais dont le squelette offre quelques particularités dignes de remarque.

Les baguettes axiales principales ont leur partie apicale extrêmement développée et dédoublée. Cette particularité se retrouve dans certains monstres nains dont nous avons encore un mot à dire, FIG. **53** et **54**.

b) *Larves trapues.*

Nous avons déjà vu que les larves sans squelette ne sont pas toujours géantes. Il en est de même pour les larves avec squelette provenant de la coalescence de plusieurs fragments d'œufs avec du syrphoplasme. Dans les FIG. **53** à **58** se trouvent figurées quelques-unes de ces larves, qui toutes proviennent au moins de deux fragments d'œufs et d'une masse syrphétique plus ou moins grande.

La plus petite d'entr'elles, FIG. **57**, provient d'une masse *c*, ayant certainement plus de deux fois le volume d'un œuf *d*. Elle est restée embryonnaire au point de vue de l'archentéron. L'invagination orale *o* n'est pas en relation avec l'intestin. L'une des baguettes calcaires est presque normale. Elle a sa partie apicale *bc* et sa partie anale *ba* et orale *bo*. L'autre est rudimentaire. Une telle larve prouve encore une fois que les diverses parties d'un œuf à hernie ne sont pas comparables et n'ont pas les mêmes puissances prospectives.

La larve, FIG. **53**, était si chargée de parties squelettiques que nous ne sommes pas parvenu à prendre connaissance de l'ensemble des parties molles. L'un des squelettes apicaux est monstrueusement développé au-delà de toute mesure. Cette partie se voit à plat en *B, b-c*. Il faut croire qu'un grand nombre d'œufs y ont laissé leurs extraovats squelettiques.

La petite larve monstre, FIG. **54**, a aussi les baguettes axiales très fortes. Leur partie squelettique est double comme dans la grande larve, FIG. **51**. On remarquera aussi le grand développement de l'archentéron dans cette larve. Le volume de cette larve dépasse encore de 3 fois celui d'un pluteus normal.

Enfin, la larve, FIG. **55**, a un squelette anal énorme, alors que le squelette oral n'est indiqué que par deux petites baguettes très fines. Les baguettes moyennes sont soudées. Cette larve provient certainement de deux œufs plus du syrphoplasme. Son squelette apical garde des traces de cette origine, *b c* appartenant à l'un des individus, *b c'* à l'autre.

§ 4. Notes bibliographiques sur les larves géantes.

Nous ne croyons pas que les faits que nous venons de décrire aient jamais été signalés.

Plusieurs auteurs ont avant nous produit des larves doubles par la soudure plus ou moins complète de deux œufs différents à divers stades de leur développement, mais jamais jusqu'à présent on n'était parvenu à incorporer une matière étrangère à la larve.

L'importance de cette découverte n'échappera à personne. Que la masse qui s'incorpore à la larve appartienne à l'animal qui a donné naissance à l'œuf ou qu'elle ait été au préalable remaniée par un parasite de quelque nature qu'il soit, c'est là une question secondaire. Le fait important, c'est que cette masse joue un rôle dans la formation de larves produites par des œufs ou des fractions d'œufs différents.

C'est ce fait qui distingue les larves que nous venons de décrire de toutes celles qui ont été obtenues par d'autres auteurs.

Pour rattacher cependant ces faits à ceux de nos devanciers qui s'en rapprochent, nous croyons utile de faire ici une *courte* revue de ce qui nous est connu à ce sujet.

D'après Zur Strassen (1896), c'est Carnoy (1879) qui a signalé le premier des œufs d'*Ascaris megalocephala* au moment de leur fusion. L'interprétation que Carnoy donne de ses fig. 100 *a* et *b* n'est pas celle que Zur Strassen leur accorde.

L'interprétation de ce dernier auteur est la seule admissible. Il s'agit de la fusion avant fécondation de deux œufs entiers renfermés dans une même coque. L'auteur suit sur des coupes l'évolution de l'embryon jusqu'à la formation d'une petite larve géante en tout semblable aux autres et n'en différant que par ses dimensions et le nombre de ses cellules (1898).

En 1886, Metschnikoff, p. 51, cite des larves géantes de *Mitrocoma annæ*, obtenues par la soudure normale et complète de plusieurs blastules.

de Lacaze-Duthiers décrit dans la *Philine* des larves jumelles véritables.

Dans les échinodermes, c'est Herbst (1892), dans son premier travail sur l'influence chimique du milieu, qui le premier a signalé la production de larves doubles provenant de la soudure de deux œufs. Les embryons se soudent à l'état de blastula dans de l'eau de mer additionnée de chlorure de lithium, fig. 18 *a-g*. Il obtient même la soudure de pluteus dans de l'eau de

mer contenant du chlorure de calcium ou de potassium. Mais jamais il n'a vu les deux ou trois individus associés se souder complétement (p. 460); leurs organes restent indépendants.

Ce sont indubitablement les travaux de MORGAN (1895) et DRIESCH (1895, (1895, I et II) qui décrivent des larves se rapprochant le plus des larves oosyrphes à squelette que nous avons décrites. MORGAN (1895) agite violemment les œufs de *Sphærechinus* de 2 à 10 minutes après leur fécondation, puis laisse tomber les œufs nus et les morceaux d'œufs d'un pied de hauteur dans un cristallisoir, où ils forment bientôt une lie assez épaisse. Les œufs sont accolés, mais la fusion ne se fait qu'au stade de blastula. D'ailleurs, les pontes qui permettent les fusions sont rares. L'auteur n'a réussi que trois fois. Le plus souvent, les larves gardent un caractère double bien marqué, mais on observe que presque toujours un individu prédomine. Une fois, les deux archentérons se sont fusionnés. Un des squelettes se développe aussi plus que l'autre. D'autres fois, on obtient une formation calcaire «grotesque», dans laquelle on ne parvient pas à retrouver les parties anatomiques du squelette normal. L'auteur fait certaines remarques qui nous intéressent particulièrement.

« Probably, dit-il, some particularities of the eggs of certain females are favorable for fusion, and the result did not depend entirely on external agencies. » Pour faire saisir toute l'importance que cette remarque a pour nous, nous ferons remarquer que, dans la lie informe qui résulte de l'agitation violente qui a endommagé certainement beaucoup d'œufs, il pouvait se trouver, sans que l'auteur ait pu s'en rendre compte, des tissus de dégénérescence de l'ovaire du *Sphærechinus*, dont la présence expliquerait la formation de ces larves monstrueuses. MORGAN varie beaucoup les conditions de son expérience et il trouve que la réussite ne dépend pas de ces conditions, qu'elle réside dans une certaine particularité inconnue de lui et que quelques femelles possèdent à l'exclusion d'autres. Cette particularité n'est-elle pas la présence d'un syrphoplasme analogue à celui que nous avons décrit dans plusieurs échinodermes et principalement dans l'*Arbacia* et qui dans ce dernier animal est pour le moins l'occasion de la formation de larves doubles présentant avec celles de MORGAN des analogies frappantes?

MORGAN dit encore qu'au commencement de leur fusion les deux blastules unies représentent le double d'une blastule ordinaire. Plus tard, ces larves se rapetissent un peu, mais elles restent toujours plus grandes que des larves normales. L'auteur en tire un argument irréfutable, à notre avis, contre les descriptions de LŒB; il va même plus loin et il invoque les

figures de Lœb comme argument pour démontrer sa thèse de la fusion de deux œufs différents. « It is instructive, dit-il, to compare Lœb's results of (fused?) plutei in this conviction! » Nous sommes absolument de l'avis de Morgan à ce sujet. Les figures de Lœb constituent une démonstration de la thèse de la fusion dès que celle-ci se trouve énoncée.

L'étude de Hans Driesch (1900) constitue un perfectionnement de la méthode de Morgan. Deux à trois minutes après la fécondation, il secoue les œufs de *Sphærechinus* d'une façon méthodique. Il les remet ensuite dans de l'eau sans calcium additionnée d'un peu de soude caustique. Il obtient de cette manière un plus grand nombre de fusions. Il exprime cependant aussi l'avis *que toutes les femelles ne sont pas les mêmes à ce point de vue* et il pense que cela doit tenir à certaines qualités particulières du protoplasme de leurs œufs. On sait quelle est l'explication que nous proposons pour interpréter cette irrégularité.

Pour le reste, sa description se rapproche beaucoup de celle de Morgan. Sa fig. 3 montre deux squelettes, dont l'un est beaucoup plus important que l'autre. L'individu a deux intestins, mais une bouche.

Un individu possède une unité très remarquable. Il est plus grand dans toutes ses parties qu'une larve normale et possède le double des cellules du mésenchyme.

Driesch pense que ces larves posséderont d'autant plus d'unités que leurs éléments se seront soudés de meilleure heure. Par ses méthodes, les pluteus qu'on obtient n'ont pas aussi généralement un caractère d'unité que ceux que nous avons obtenus. L'explication de ce fait se trouverait-elle dans cette hypothèse émise par Driesch? « La soudure demande du temps, dit Driesch, et si elle se fait à un moment où la différentiation commence déjà ou va se faire (« gastrulation »), il se peut qu'elle aille plus lentement que la différentiation elle-même et cette dernière la dépassera. » Les larves sont réunies de très bonne heure dans le procédé trouvé par nous et de plus les masses plasmodiales les tiennent intensément unies.

Lœb (1901) parle de larves géantes de *Chætopterus* provenant de 2 et 3 œufs obtenus après traitement au KCl. Il ne décrit d'ailleurs pas ces larves.

Frank R. Lillie (1902) a obtenu la soudure d'un grand nombre d'œufs (au moins 100) d'annélides (*Chætopterus pergamentaceus*). Les noyaux restent indivis, mais le protoplasme se différencie. Il se produit des cils à certains endroits, mais bientôt la masse tombe entièrement en morceaux, la partie

ciliée aussi bien que le reste. Il ne se produit donc pas de larve, mais il y a une certaine différentiation sans segmentation.

Faut-il citer ici aussi les essais de soudure qui ont été faits par un certain nombre d'auteurs sur les embryons de batraciens? Le travail de Born est un des plus intéressants à ce sujet. Cet auteur a soudé des embryons de batraciens au moment où la gouttière médullaire se ferme. A ce moment, les larves possèdent le pouvoir régénérateur au plus haut point. Quand les qualités prospectives des organes mis en contact sont les mêmes et *appartiennent à la même espèce*, ces organes se soudent même quand ils appartiendraient au système circulatoire ou au système nerveux.

Il y a dans ce mémoire un point qui nous intéresse, c'est la condition d'identité d'espèce requise pour la soudure parfaite. Nous trouvons dans cette condition un argument en faveur de l'identité de provenance entre les masses plasmodiales et les œufs qui constituent avec elles un être d'une unité si remarquable.

§ 5. Histogénèse des larves oosyrphes.

Nous avons fait de nombreux enrobages de pontes à divers stades de leur développement depuis le moment de la sortie de l'eau hypotonique jusqu'au moment où les larves commencent à se mouvoir. C'est le résultat déjà très intéressant de l'étude de ces enrobages que nous présentons au lecteur pour terminer ce mémoire.

Si l'on coupe des pontes fixées immédiatement après leur sortie de l'eau hypotonique, on y trouve, à côté d'un grand nombre d'œufs plus ou moins déformés, des masses granuleuses dont les divers éléments prennent très inégalement les matières colorantes. Nous reconnaissons ces masses pour être identiques à celles dont nous avons parlé dans le chapitre II.

Elles renferment des spermatozoïdes non transformés en quantité et on y trouve aussi des noyaux de leucocytes qui constituent toute leur organisation apparente. Souvent, ces masses portent à leur surface des œufs absolument analogues à ceux qu'on observe en dehors d'elles, PHOT. **8**. Nous en avons observé qui en portaient au-delà de dix. D'autres fois, elles en portent un nombre beaucoup moindre.

Les dimensions de ces masses plasmodiales sont très variables. Il suffira de jeter un coup d'œil sur les FIG. **32**, **70**, **72**, **73**, **74**, **75**, **76**, pour en être convaincu. Il arrive qu'un petit extraovat reste attaché à une masse,

FIG. **70**. D'autres fois, ce sont les œufs eux-mêmes qui y adhèrent avec ou sans leurs hernies.

Nous ne pensons pas que tous les œufs qui se trouvent à la périphérie à ce moment soient destinés à y rester. Il arrive certainement qu'il s'en détache un certain nombre.

A quel moment l'adhérence définitive se produit-elle? Nous ne pourrions l'affirmer d'une façon certaine, mais nous pensons qu'elle a lieu de bonne heure et que les œufs qui se détachent sur le tard n'ont jamais contracté une union intime avec le plasmodium de dégénérescence. D'ailleurs, les manipulations indispensables pour l'étude qui exige l'isolement des larves dont on veut poursuivre le développement ne sont évidemment pas favorables à la production d'une adhérence parfaite. Si les concrescences pouvaient se produire en tout repos, le nombre d'œufs qui restraient accolés serait certainement supérieur.

Toujours est-il que les divers œufs ou fractions d'œufs qui adhèrent au plasmodium se développent indépendamment l'un de l'autre pendant un temps assez long. Au moment de la formation de la gastrule, FIG. **71**, l'unification des diverses parties n'a pas encore lieu, FIG. **72**, **73**, **78**. Elle ne tardera pas cependant à se produire, car les divers feuillets ou groupes formés se touchent presque, FIG. **72**, **76**.

Les gastrules qui se forment à ce moment ont souvent leur blastopore tourné vers la masse plasmodiale, FIG. **72**, III, **74** et **78**. Cette dernière figure, qui ne représente qu'une partie d'une masse aussi grande que celles des FIG. **75**, **76**, est particulièrement démonstrative. Le blastopore a l'air de s'ouvrir largement et l'entoderme se défait. Dans la FIG. **76**, la masse cellulaire en VII peut s'interpréter comme une gastrule, dont le blastopore serait tourné vers l'extérieur. On remarquera qu'elle se défait aussi.

Il semble probable d'après ces données et d'autres semblables qu'il se forme à ce moment un ectoderme nouveau aux dépens de tous les éléments cellulaires qui se sont développés sous l'influence des divers centres de prolifération et qu'il se produira ainsi une blastula gigantesque de nouvelle formation. Des éléments de ce feuillet extérieur nouveau sont déjà bien évidents en FIG. **72** III, **75** I et **76** I, II et VI. Dans cette dernière masse, la majeure partie de la surface de la masse plasmodiale est déjà couverte.

Nous voudrions beaucoup pouvoir présenter au lecteur des coupes de larves plus avancées. Nous regrettons de devoir dire que nous n'en avons pas pour le moment. Les larves commencent à se mouvoir à ce stade et nous avons isolé et étudié à l'état vivant ou monté - in toto - toutes celles que nous avons pu mener à leur entier développement.

Résumé du chapitre III.

1° Les masses plasmodiales de dégénérescence constituent les centres de formation de larves monstrueuses et souvent gigantesques.

2° Ces larves résultent de l'association et de la concrescence des produits des œufs ou parties d'œufs qui viennent y adhérer de bonne heure.

3° Ces diverses parties restent plus ou moins indépendantes et se développent chacune à part elle jusqu'à l'époque de la formation complète de la gastrula.

4° Après ce moment, ces diverses parties se rejoignent et il se produit en fin de compte des larves dont l'unité est toujours très remarquable.

5° Ces larves peuvent ne pas porter de squelette et c'est parmi ces dernières que l'on trouve les plus grandes. Elles ont toujours une bande ciliée unique. Parfois, on y trouve un archentéron complet, mais le plus souvent l'intestin reste rudimentaire et probablement réduit à l'intestin primitif muni de son blastopore (anus de la larve pluteus).

6° Les larves portant un squelette peuvent être franchement jumelles ou bien posséder une unité absolument remarquable. On trouve toutes les étapes intermédiaires entre ces deux extrêmes. Leur archentéron est normalement complet et le plus souvent très développé. C'est cet organe qui représente le mieux l'unité de l'organisme.

7° Le squelette est rarement simple. Le plus souvent, on y voit des traces plus ou moins évidentes de dualité ou de multiplicité.

8° Parmi ces larves, on en trouve de petites, dont les bras sont souvent très réduits et le squelette proportionnellement énorme.

9° Leur tube digestif est aussi très grand par rapport à leur *volume*, qui dépasse encore le plus souvent celui d'un pluteus normal.

10° Ce sont ces larves que Lœb a considérées comme provenant de l'évolution des œufs garnis de leur extraovat.

11° Les descriptions de larves doubles obtenues par Morgan et Driesch dans le *Sphærechinus* sont celles qui se rapprochent le plus des nôtres. Il a des raisons pour croire qu'elles sont aussi dues à l'intervention de masses plasmodiales.

Comme conclusion à cette étude, disons qu'elle apporte un argument nouveau en faveur de la théorie des « *organbildende Keimbezirke* » ou *localisations germinales* de Whitman (1878) et Van Beneden (1883), du moins

pour ce qui concerne la localisation des *facteurs morphologiques* par opposition aux facteurs de segmentation (WILSON, 1903 et 1904), et cela aussi bien dans les œufs traumatisés se développant seuls que dans ceux qui, associés à une masse étrangère, donnent naissance aux larves oosyrphes.

Il semble aussi découler de ces expériences, comme corollaire à cette conclusion, que si le noyau joue un rôle dans la transmission des qualités héréditaires, il n'est pas le seul support de ces qualités, puisque l'ablation dans certaines circonstances d'une partie du protoplasme de l'œuf rend ce dernier incapable de reproduire certains organes spécifiques d'une larve normale.

BIBLIOGRAPHIE.

1901 *Bataillon* : Arch. für Entwickelungsmechanik, B^d XI.

1894 *Born* : Jahr. der Schles. Gesellsch. f. vaterländische Kultur.

1901 *Boveri* : Verh. der phys.-med. Gesellsch. Würzburg, B^d 34.

1879 *Carnoy* : La Cellule, t. II.

1897 *Carnoy & Lebrun* : La Cellule, t. XIII, p. 63.

1887 *Chabry* : Journal de l'anatomie et de la physiologie.

1897 *Crampton* : New-York Acad. of Science, X ; cité par Korschelt et Heider.

de Lacaze-Duthiers : Arch. de zoologie expérimentale et générale, t. IV.

1901 *Delage* : Arch. de zoologie expér. et génér., n° 2, Série III, IX.

1902 » : Ibid., n° 2.

1903 *Driesch* : Arch. für Entwickelungsmech , B^d XVI.

1892 » : Zeitsch. für wissen. Zoologie, B^d 53.

1893, I » : Ibid., B^d 55.

1893, II » : Mittheil. zool. Station Neapel, B^d 11.

1900 » : Arch. für Entwickelungsmech., B^d X.

1895, I » : Ibid., B^d II.

1895, II » : Ibid., B^d III.

1896 » : Ibid., B^d IV.

1891 *Fiedler* : Festschr. für Nägeli und Kölliker.

M. H Fischer : The American Journal of Physiology, vol. IX, n° 11.

1892 *Curt. Herbst* : Zeitsch. für wissen. Zoologie, B^d 55.

1896 *Herlitzka* : Arch. für Entwickelungsmechanik, B^d IV.

1897 » : Ibid., B^d IV.

1897 *O. Hertwig* : Sitzungsberichte d. K preuss. Akad. Wiss. Berlin.

1903 *F. A. Janssens* : Production artificielle de larves géantes chez un échinide; Comptes-rendus, 27 juillet.

1900 *Kopsch* : Intern. Monat. f. Anat u. Physiol , B^d XVII.

1902 *Kostanecki* : Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie.
1899 *Læb* : American Journal of Morphology.
1900 » : Ibid.
1893 » : Biological Lectures, Woods'Hole.
1895, I » : Ibid.
1895, II » : Arch. für Entwickelungsmech , B^d II.
1895, III » : Archiv f. die ges. Physiologie (PFLUEGER's Arch.), B^d 59.
1901 » : The American Journal of Physiology, v. IV.
1895-96 *Frank R. Lillie* : Arch. für Entwickelungsmech., III et IV.
1902 » : Arch. für Entwickelungsmech., t. XIV.
1894 *Morgan* : Anatomischer Anzeiger, IX, p. 141.
1899 » : Arch. für Entwickelungsmech., VIII, p. 448.
1894 *Morgan, T. H.* : Anatomischer Anzeiger, 9.
1895 » : Arch. für Entwickelungsmech., B^d 2.
1898 *Mead* : Lectures delivered at Woods Hole; Boston.
1886 *Metschnikoff* : Embryologische Studien an Medusen; Wien, ALFR. HÖLDER.
1895 *B. Rawitz* : Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin, 29 novembre.
1902 *N. M. Stevens* : Arch. für Entwickelungsmech.
1901 *H. Spemann* : Arch. für Entwickelungsmech., B^d XII et suivants.
1883 *Selenka* : Studien über Entwickelungsgeschichte der Thiere; Wiesbaden (cité par DRIESCH).
1883 *Van Beneden* : Archives de Biologie, t. IV.
1878 *Whitman* : Quat. Journ. of Micr. S., t. XVIII.
1893 *Edm. B Wilson* : Journal of Morphol., B^d 8.
1903 » : Archiv für Entwickelungsmech , B^d XVI, p. 411.
1904 » : The Journal of experim. Zoöl., t. I.
1895 *Zoja* : Archiv für Entwickelungsmech., B^d I et II.
1896 *Zur Strassen* : Biol. Centralblatt, XVI, n° 11.
1898 » : Arch. für Entwickelungsmech., VII.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Les dessins sont pris à l'aide de la chambre claire Abbé *à la hauteur de la table et avec les lentilles de* Zeiss, *sauf indication contraire.*

PLANCHE I.

FIG. **1** et **2**. Apochr. 2 mm., ocul. 4 comp. D'après une coupe microtomique.

FIG. **3**. DD, 4 comp. Œuf nettement pédicellé avec noyau dans l'extraovat. Ce dernier se divise en un certain nombre de blastomères qui se séparent. Après un certain temps, les cinèses dégénèrent en mouvements amiboïdes et le tout tombe en globules très petits.

FIG. **4** *B*. D*, 4 comp. Extraovat séparé de l'œuf 4 *A*, 4 heures après fécondation.

FIG. **4** *A*. Idem avec l'œuf, 18 heures après fécondation. Voir texte de la fig. **3**.

FIG. **5** à **11**. D*, 4 comp. Segmentation pendant les 2 premières heures montrant la direction variable des premières segmentations par rapport à l'axe passant par l'œuf et l'extraovat.

FIG. **12**, **13**, **14**. D*, 4 comp. Diverses étapes de l'évolution d'un œuf fort pédicellé.

FIG. **15**. DD, 4 comp. Larve dissymétrique provenant d'un œuf avec son extraovat.

FIG. **16**. D, 2. Après 3 heures 1/2. Développement d'un œuf avec extraovat.

FIG **17**, **18**, **19**. D*, 4 comp. Larves blastula dérivant d'œufs plus ou moins profondément pédicellés, après un demi-jour de développement.

FIG. **20**. DD, 4. Blastula provenant du développement d'un embryon analogue à ceux des fig. **18** et **19**.

FIG. **21**. DD, 4 comp. Pluteus provenant du développement d'un œuf avec extraovat. La partie de droite beaucoup plus pigmentée correspond à l'œuf, et la partie de gauche, beaucoup plus claire, à l'extraovat.

FIG. **22**. DD, 4 comp. Larve gastrula provenant d'un œuf et son extraovat.

PLANCHE II.

FIG. **23**. DD, 4 comp. 19 juin. Plasmodium syrphétique. *A' B C*, contours successifs d'une éminence mamelonnée, animée de mouvements amoeboïdes.

FIG. **24**. Apochr. 2 mm., 4 comp. Un œuf du 5 juin avec son extraovat, à la surface duquel on observe des pseudopodes dont les figures successives sont reproduites dans la FIG. **24'**, en *A*, *B*, *C*.

FIG. **25** *A B*. D*, 3. 29 janvier. Œufs jeunes d'*Echinus miliaris*, montrant les figures successives des énormes pseudopodes qu'ils poussent de toutes parts.

FIG. **26**. D*, 3. 29 janvier. *Echinus miliaris*. Formes successives d'une masse syrphétique provenant de l'ovaire de l'animal.

FIG. **27** *A B*. Idem.

FIG. **28**. D*, 3. 29 janvier. *Echinus miliaris*. Quelques filaments garnis de lamelles mucoïdes, à la surface d'une masse syrphétique.

FIG. **29**. Apochr. 2 mm., 4 comp. Coupe à travers un ovaire syrphogène d'*Arbacia*.

A, le plasmodium syrphétique attaque la paroi de l'ovaire; on y voit des œufs à divers stades de dégradation.

B, syrphoplasme se trouvant dans la lumière de la gonade accolé à un œuf mûr.

FIG. **30**. Apochr. 2 mm., 4 comp. Paroi de la glande attaquée par le plasmodium syrphogène.

FIG. **31** *A*. D, 4 comp. Contour extérieur d'un plasmodium syrphogène se trouvant dans la lumière de la glande, en contact avec des œufs mûrs.

B. Apochr. 2 mm , 4 comp. Détail du plasmodium.

PLANCHE III.

FIG. **32**. Apochr. 2 mm., 4 comp. Syrphoplasme dans une ponte après fécondation. Dessin d'après une coupe On voit des œufs à tous stades de dégradation. Le nombre de noyaux plasmodiaux est très réduit Le syrphoplasme contient beaucoup de spermatozoïdes non transformés

FIG. **33**. Apochr 2 mm., 4 comp. Un œuf dégradé se trouvant dans une masse analogue à celle de la FIG. **32**

FIG. **34**. D, 4 comp. Plasmodium syrphogène trouvé en dehors de l'ovaire.

FIG. **35**. Apochr. 2 mm , 4 comp. Détail du plasmodium de la FIG. **34**.

FIG. **36**. Apochr. 2 mm , 12 comp , à la hauteur de la platine du microscope. Coupe à travers l'ovaire d'un *Asteracanthium rubens*. Aux environs des deux chiffres 36, partie du contour de deux œufs mûrs, avec les cellules folliculaires. En *gr* et *gd*, phagocyte plus ou moins chargé de granules.

FIG. **36** 2. *a, b, c, d.* 1/12 à sec KORITSKA, 4 comp. *Asteracanthium rubens.* Globule du sang avec pseudopodes. Dessinés sur le vivant.

FIG. **37**. Apochr. 2 mm., 4 comp. Coupe à travers l'ovaire d'*Arbacia* Sur la surface extérieure de la paroi, on observe un plasmodium syrphogène attaquant l'ovaire. En *e*, on trouve des noyaux de l'épithélium ; en *m*, l'assise musculaire est attaquée ; en *pl*, des bras du plasmodium s'observent dans la cavité de l'ovaire, en partie appliqués contre un œuf presque mûr.

FIG. **38**. DD, 4 comp. Larve pluteus normale. En *o*, bouche ; *œ*, intestin antérieur ou œsophage ; *e*, intestin moyen ou estomac ; *i*, intestin terminal ; *a*, anus ; *bo*, baguettes orales ; *ba*, baguettes anales ; *bm*, baguette médianes ; *bc*, baguettes apicales.

FIG. **39**. DD, 4 comp. Larve normale vue du côté de la bouche. Les baguettes anales sont dessinées en raccourci.

FIG. **40**. *A*, 4. Masse oosyrphe.

FIG. **41**. *A*, 4. Six embryons au stade morula, accolés par leurs hernies à une masse syrphétique.

FIG. **42**. *A*, 2. Masses oosyrphes.

FIG. **43**. DD, 4 comp. Larve jumelle dessinée le 19 juin, provenant de deux œufs à hernies accolés à un petit syrphoplasme et isolés dans cet état le 15 juin.

PLANCHE IV.

FIG. **44**. DD, 4 comp. Larves oosyrphes jumelles provenant de 4 œufs associés à du syrphoplasme. Archentéron double *o* et *o'*, deux bouches ; *a*, seul anus observable.

FIG. **45**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe jumelle, provenant de 3 œufs associés à du syrphoplasme Isolée le 15 juin et dessinée le 20.

FIG **46**. DD, 4 comp. Larve monstrueuse provenant de l'association de deux œufs par leur extraovat L'œuf de gauche a péri pendant le développement.

FIG. **47**. DD, 4 comp *A*, *B*, croquis d'avant et d'arrière d'une larve oosyrphe du 15 juin, isolée le 18, provenant de la soudure d'au moins deux œufs à une masse syrphétique assez grande. La larve porte deux bras d'un côté et un de l'autre. On y observe deux archentérons complets. On y retrouve aussi une dualité remarquable dans les éléments squelettiques, qui sont beaucoup plus grands que leurs homologues dans un pluteus normal.

FIG **48**. D*, 4 comp. Larve oosyrphe à trois bras, dont les détails anatomiques n'ont pu être observés à cause du pigment.

FIG. **49**. DD, 4 comp. Larve du 15 juin, dessinée le 20, offrant un exemple d'unité absolument remarquable, principalement quant à l'archentéron, dont les diverses parties anatomiques sont les mêmes que dans une larve normale, mais ont

des dimensions extraordinairement développées. Cette larve provient certainement de deux œufs entiers plus des parties d'œufs et du syrphoplasme. Le bras de gauche est dessiné en raccourci; il a la même longueur que celui de droite. Cette larve a dix fois le volume d'un pluteus normal.

FIG. **50** *a*. DD, 4 comp. Larve provenant d'au moins deux œufs associés à du syrphoplasme. On y remarquera surtout un squelette extrêmement développé et de forme baroque. Le bras de gauche est dessiné en raccourci. Il a la même longueur que celui de droite.

FIG. **50** *b*. Squelette du bras droit de la larve **50** *a* dessiné après avoir fait tourner la larve sur elle-même de 180°.

FIG. **51**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe, surtout remarquable par ses pièces squelettiques

FIG. **52**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe à squelette peu développé, surtout remarquable par son archentéron.

PLANCHE V.

FIG. **53**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe naine. *B*, croquis pris après avoir fait subir à la larve *A*, suivant un axe horizontal, une rotation de 90 degrés. Cette larve est surtout remarquable par le développement prodigieux de sa partie squelettique. Pour l'explication des lettres, voir FIG. **38**.

FIG. **54**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe naine, à archentéron complet et squelette trapu. On remarquera que les baguettes anales et apicales sont dédoublées dans cette larve, comme cela est également le cas dans les larves **51** et **53**. Archentéron complet et très musculeux

FIG. **55**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe naine, à squelette très développé et archentéron complet.

FIG. **56**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe naine très irrégulière.

FIG. **57**. *c*, *d* : A, 4 comp. *c*, masse oosyrphe renfermant un morceau d'œuf et du syrphoplasme; *d*, œuf normal, 15 juin. *A* : DD, 4 comp., vue de face et latérale de la larve entièrement développée, croquis pris le 21 juin; *o*, bouche de la larve. n'est pas entrée en relation avec le reste de l'archentéron. *B* : DD, 4 comp., la même après rotation de 90° autour d'un axe vertical.

FIG. **58**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe naine.

FIG. **59**. *b*, *c*, *d* : A, 4 comp. *d*, deux masses oosyrphes isolées le 15 juin; *c*, les deux masses se sont réunies, dessinées le 19 juin; *d*, œuf normal.

A : DD, 4 comp. Croquis pris le 21 juin. Larve entièrement développée. Cette larve est surtout remarquable par un squelette complétement excentrique, qui semble avoir été produit par la masse oosyrphe supérieure de *b*.

FIG. **60**. DD, 4 comp. Larve sans squelette. *s*, archentéron formé d'une poche close de toutes parts, qui n'est plus même en relation avec l'invagination; *a*, correspondant vraisemblablement à l'anus, ni avec l'invagination buccale, *o*; *c*, bande ciliaire.

FIG. **61**. DD, 4 comp. Larve sans squelette; *c*, cercle ciliaire.

FIG. **62**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe dessinée après avoir été montée au baume et colorée au para-carmin de MAYER. On voit un archentéron complet en *o s a*.

b, correspond probablement à une seconde invagination buccale.

c, bande ciliaire suivant la crête de certaines éminences, plus ou moins analogues à des bras d'un pluteus.

FIG. **63** 1. DD, 4 comp. Larve oosyrphe sans squelette et sans archentéron.

FIG. **63** 2. DD, 4 comp. Idem.

PLANCHE VI.

FIG. **64**. DD, 4 comp. Larve oosyrphe naine.

FIG. **65** à **69**. DD, 4 comp. Contours extérieur de larves oosyrphes géantes.

FIG. **70**. Apochr. 2 mm., 4 comp Extraovat accolé à du syrphoplasme 40 minutes après fécondation. D'après une coupe à travers une ponte.

FIG **71**. Apochr. 2 mm., 4 comp. Coupe suivant l'axe d'une gastrula se trouvant dans la ponte des larves oosyrphes des FIG. **72** jusqu'à **79**.

FIG. **72**. Apochr. 2 mm., 4 comp Coupe d'une larve oosyrphe de petites dimensions. — *I*, *II*, *III*, trois parties de larves associées au syrphoplasme : *II*, *III*, provenant probablement de deux œufs; *I*, d'un extraovat

FIG. **73** Apochr. 2 mm., 4 comp. Coupe d'une larve oosyrphe naine formée d'un petit syrphoplasme associé à cinq petites masses cellulaires provenant probablement d'extraovats.

PLANCHE VII.

Apochr. 2 mm., 4 comp.

FIG. **74**. Coupe à travers une larve oosyrphe naine formée d'une gastrula très déformée et d'un petit morceau de syrphoplasme.

FIG. **75**. Larve oosyrphe géante formée d'une énorme masse de syrphoplasme, dans laquelle on reconnaît des noyaux de phagocytes, des spermatozoïdes non modifiés et des œufs, *o*, plus ou moins profondément modifiés. Dans la coupe qui a fourni le dessin, on trouve *I*, *II*, *III*, *IV* masses cellulaires provenant d'œufs ou extraovats. *I* est certainement formé par un feuillet ectodermique.

FIG **76**. Larve oosyrphe géante. Les contours internes représentent des œufs en dégénérescence. *I* à *VII*, morceaux d'œufs en voie de développement. Leurs produits entourent presque complétement la larve. *I* et *VI* semblent être des feuillets ectodermiques développés dans leur situation normale. *VII* semble être une gastrula dont le blastopore est tourné vers la surface de la masse. Le tissu est évidemment en dissociation et subit un remaniement.

FIG **77**, **78**, **79**. Parties de larves analogues à celles des FIG. **75** et **76**.

FIG. **78**. La forme gastrula est encore reconnaissable. Le blastopore s'ouvre et l'entoderme se dissocie et subit un remaniement, il semble se convertir en mésenchyme.

PLANCHE VIII.

Photogrammes d'après des photographies de coupes prises à l'appareil de Füss, **1**, **3**, **4**, **6** et **7** avec apochr. 2 mm., 4 comp., **2** avec apochr. 2 mm , 2 comp., **5** avec apochr. 16 mm., 8 comp., **8** et **9** avec apochr. 16 mm., 4 comp.

1. Œuf avec petit extraovat renfermant le noyau de segmentation.

2 Paroi d'un ovaire normal

3. Paroi d'un ovaire attaqué par le plasmodium Commencement de l'action.

4. Syrphoplasme attaquant la paroi de l'ovaire : *n*, noyau d'un œuf, et *o*, *o*, œufs à divers stades de destruction.

5. Plasmodium dans la cavité de l'ovaire. Voyez FIG. **31**.

6 et **7**. Plasmodiums dans la cavité de l'ovaire plus ou moins chargés de restes d'œufs.

8. Masse oosyrphe 40 minutes après fécondation Voyez FIG. **70**

9. Larve oosyrphe un jour après fécondation. Voyez FIG. **72** à **79**.

TABLE DES MATIÈRES.

PAGES.

CHAPITRE I.

Développement anormal résultant du séjour des œufs d'Arbacia dans de l'eau de mer hypotonique.

§ 1. *Méthodes. — Essais de parthénogénèse* 248
§ 2. *Place occupée par le noyau dans les œufs à hernie* 251
§ 3. *Segmentation dans les œufs à hernie.* 252
I. Que deviennent les deux parties d'un œuf à hernie quand le pédicule s'est rompu ? 252
1° La partie non nucléée peut-elle être fécondée? 252
2° Sort des deux parties de l'œuf après leur séparation . . . 253
II. Comment se forment les premiers blastomères quand l'œuf continue à adhérer à l'extraovat? 255
1° Dans quelle direction se produit le premier fuseau de division? 255
2° Comment se comportent les noyaux des premiers blastomères? . 256
§ 4. *Sort ultérieur des deux parties de l'œuf* 257
I. Embryons fort étranglés. 257
II. Embryons peu étranglés. 259
§ 5 *Se forme-t-il parfois des larves jumelles?* 260
Résumé du chapitre I 262

CHAPITRE II.

Masses plasmodiales dans les pontes d'Arbacia.

§ 1. *Description de ces masses* 263
§ 2. *Origine des masses syrphétiques* 264
§ 3. *Nature du plasmodium syrphogène* 267
Résumé du chapitre II 269

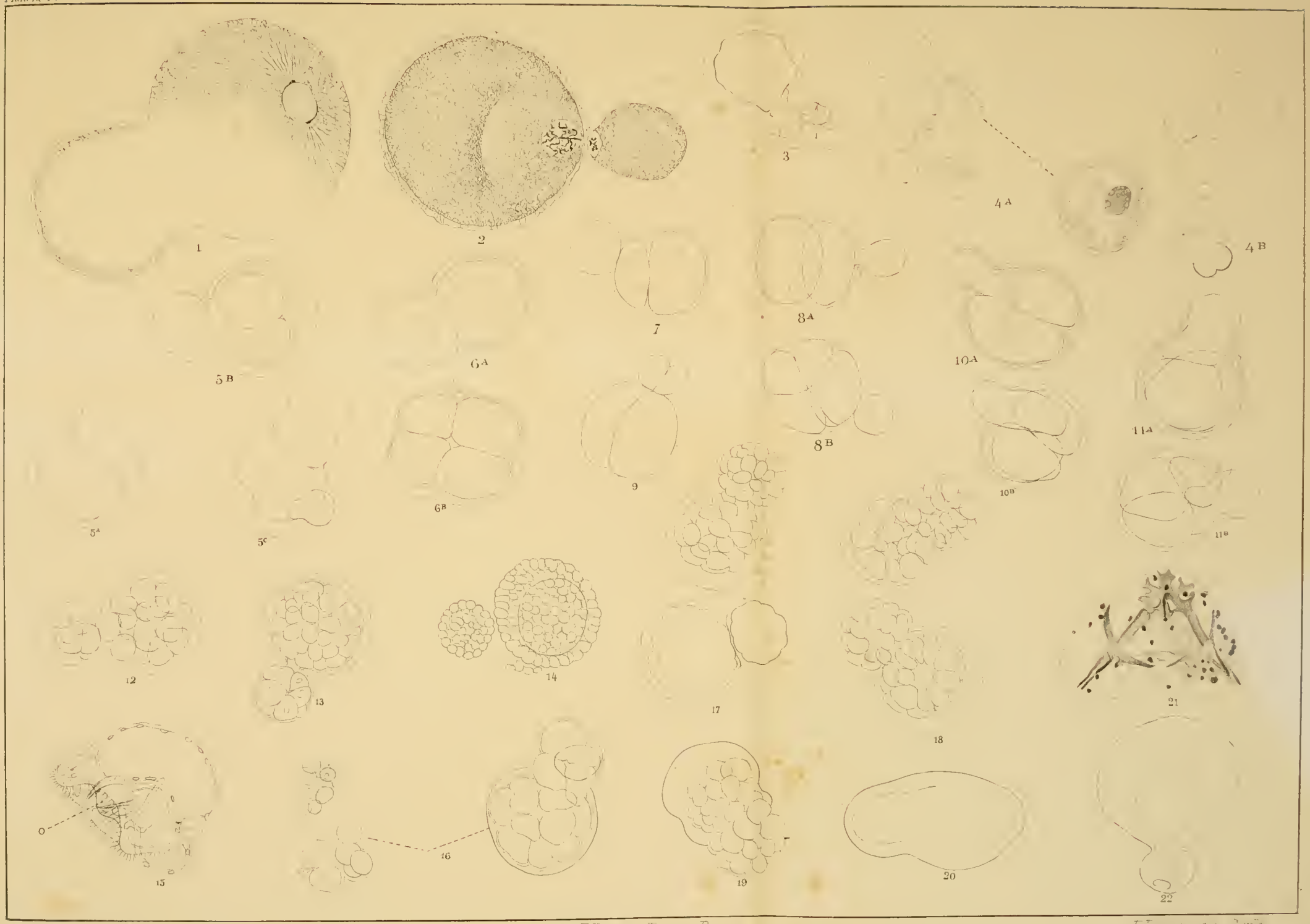
CHAPITRE III.

Production artificielle de larves géantes et monstrueuses ou larves oosyrphes.

§ 1. *Larves géantes dans les cultures* 269
§ 2. *Formation des larves oosyrphes* 270

§ 3. *Leur développement* 271
I. Larves oosyrphes sans squelette . . . 271
II. Larves pourvues de squelette . . . 273
a) Grandes larves . . . 273
b) Larves trapues . . . 276
§ 4. *Notes bibliographiques* 277
§ 5. *Histogénèse des larves oosyrphes* 280
Résumé du chapitre III . . . 282

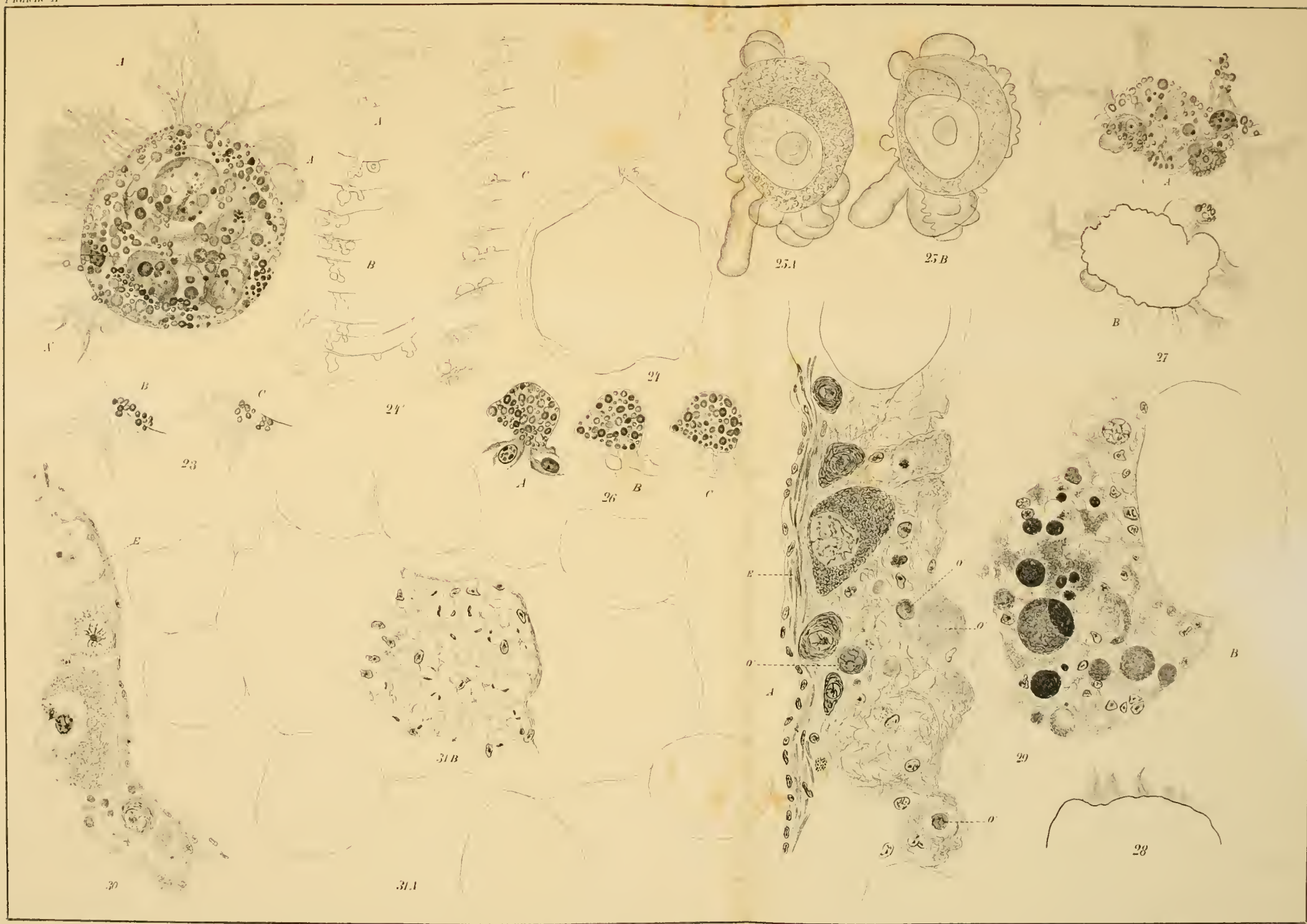
Bibliographie 285
Explication des planches 287



F. Janssens ad nat. delin.

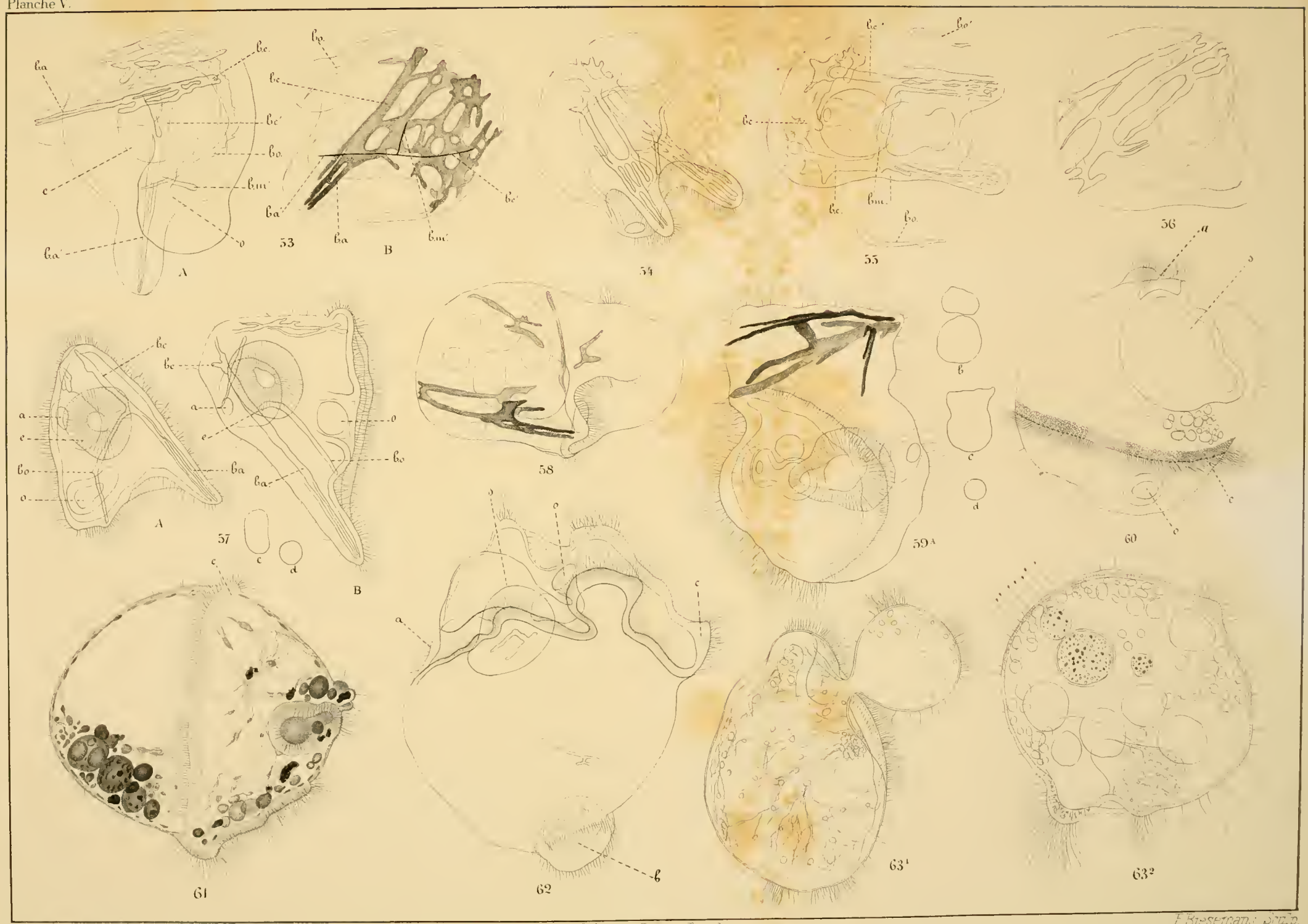
Lith. De Tillenier Frères, Brux.

F. Bi[illegible]


A
A
A
B
A
B
C
23
24
C
24
A
B
C
26
25 A
25 B
A
B
27
E
E
o
o
o
o
A
B
29
28
30
31 A
31 B

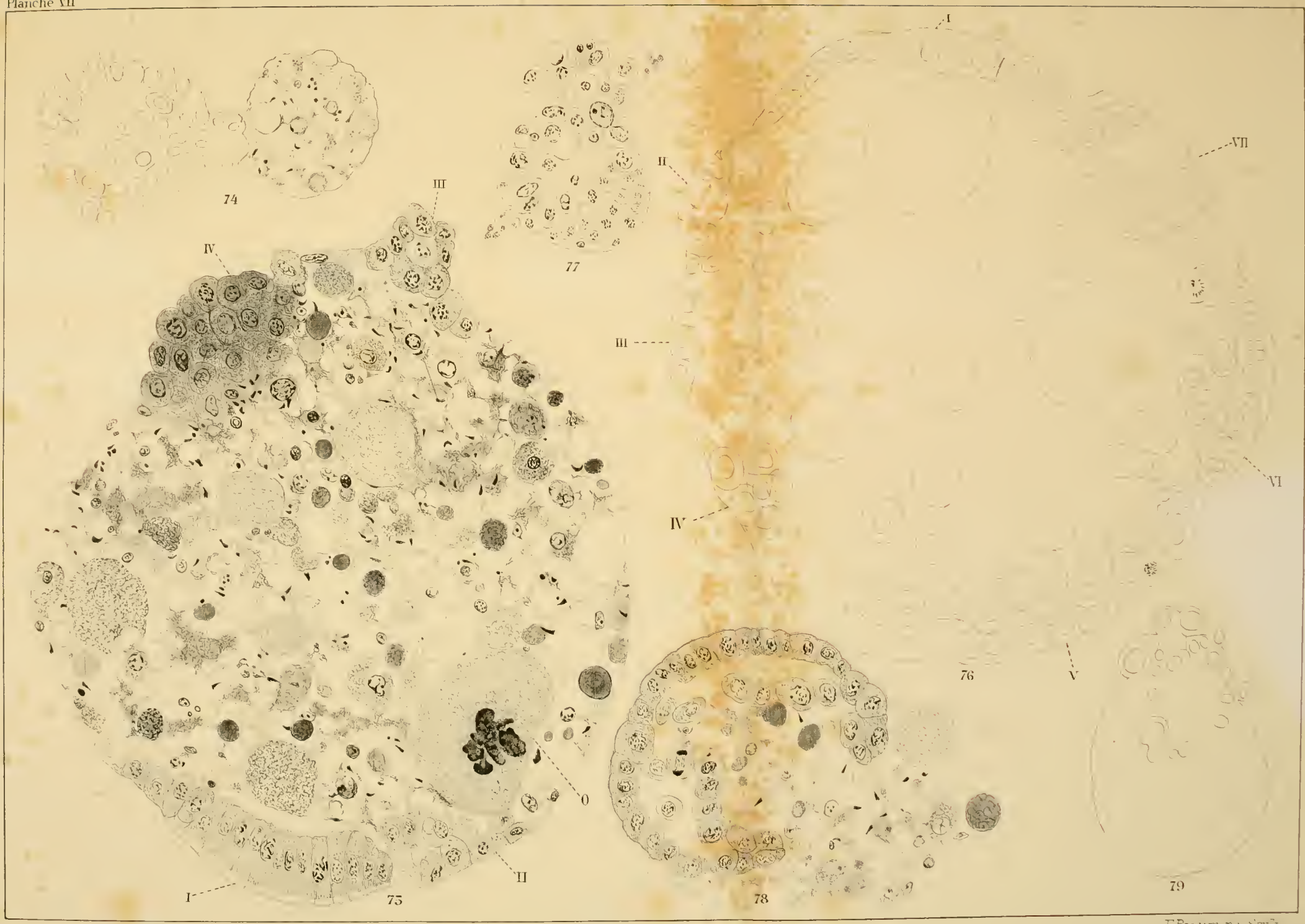
32
33
34
35
36
36²
37
38
39
40
41
42
43
gd
gr
gl
glr
m
m'
e
e'
d
a
b
pl
b.o
o
α
b.a
b.m
b.c
i

o
A
a
B
o'
44
o
o'
a
45
48
o
a
46
s'
A
s
s'
B
47
a
u
t
c
49
50 a
50 b
51
52



F. Lyns ... Inst. deim.
Lith. De Tollenaer Freres Bruxx.
F. Biesemans Sculp.

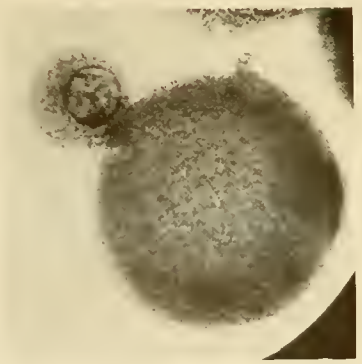
F. Andresens ad nat. delin.
Lith. De Tollenaere Frères, Brux.s
F. Biesemans Sc.lp.



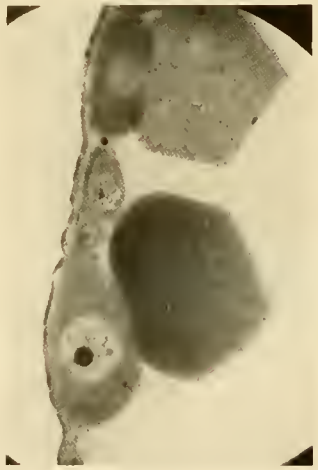
F. Janssens ad nat. delin.

Lith. De Tollenaere Frères, Brux.s

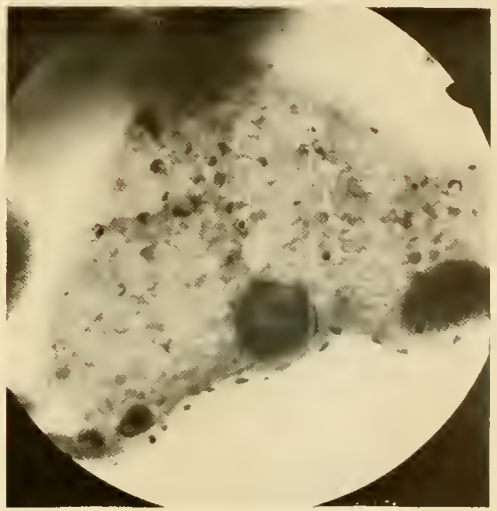
F. Bressemans Sculp.



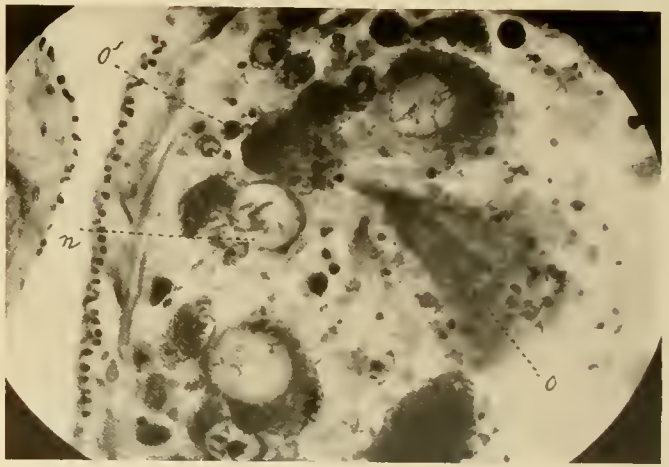
1



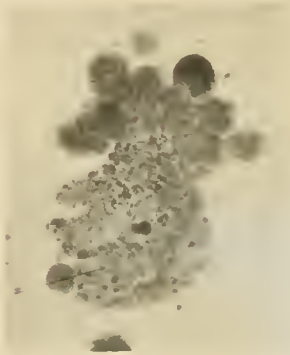
2



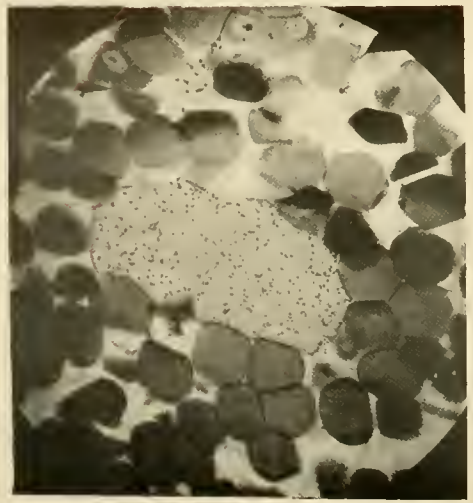
3



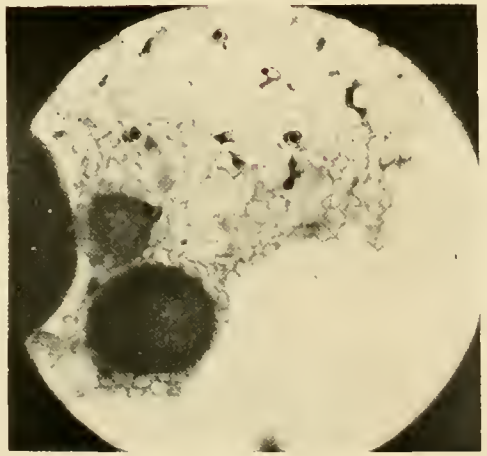
4



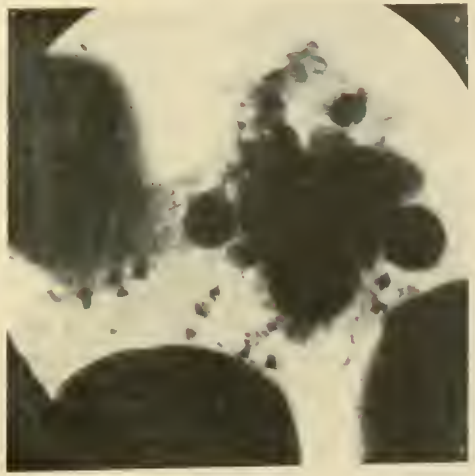
8



5



6



7

9

Janssens, ad. nat. phot.

La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation

PAR

Victor GRÉGOIRE
PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE CYTOLOGIE
A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN

(*Déposé le* 5 *mai* 1904.)

La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation.

Deux notes viennent de paraître en même temps sur la réduction numérique des chromosomes dans les végétaux, l'une du Professeur STRASBURGER (1), l'autre de J. BERGHS (2). STRASBURGER étudie le processus complet des cinèses de maturation; BERGHS n'en décrit qu'une étape importante. Touchant cette étape, les deux notes aboutissent, ainsi que nous allons le voir, à des résultats contradictoires, et en même temps se séparent toutes deux des descriptions de FARMER-MOORE et de GREGORY dans leurs récentes publications (3). Nous avions suivi de tout près les recherches de notre élève J. BERGHS. Néanmoins, en présence de la nouvelle interprétation de l'éminent professeur de Bonn, nous nous sommes remis encore une fois à étudier les phénomènes de la façon la plus minutieuse. Nous avons conclu que, pour le *Lilium speciosum* et l'*Allium fistulosum* (microsporogénèse), il n'y a pas moyen de douter de la rectitude de l'interprétation de J. BERGHS.

Nous préparons nous-même, sur toute cette question si complexe, un travail de synthèse critique se rapportant aux deux règnes. Toutefois,

(1) STRASBURGER : *Ueber Reduktionsteilung*; Sitzungsber. der K. Preus. Akad. d. Wissens., 1904.

(2) J. BERGHS : *La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogénèse végétale. I*; La Cellule, t. XXI, fasc. I, 1904.

(3) FARMER et MOORE : *New investigations into the reduction phenomena of animals and plants*; Proc. of the R. S., LXXII. — GREGORY : *Reduction divisions in Ferns*; Proc. of the R. S., LXXII.

dans le but d'éclairer tout de suite la discussion par la mise en présence des opinions contradictoires et de leurs arguments, nous voudrions dès maintenant présenter ici quelques remarques au sujet de cette question. Nous nous bornerons à la sporogénèse végétale.

Avant tout, nous pensons que, pour la clarté dans la discussion des données actuelles de la littérature, il est utile de distinguer, dans les cinèses de maturation, *deux périodes* : *l'une* comprend tous les phénomènes qui aboutissent à la constitution des chromosomes définitifs de la Ire cinèse, prêts à se placer à l'équateur du fuseau ; la *seconde* comprend tous les phénomènes qui se passent depuis la « métaphase I » jusqu'à la « télophase II » (1) ; elle embrasse donc la série des processus qui accomplissent le partage des bâtonnets définitifs de la Ire cinèse. Nous commencerons par la seconde période.

A. De la métaphase I à la télophase II. (Seconde période.)

Touchant cette seconde période, nous nous contenterons d'exprimer ici les conclusions que nous justifierons dans notre travail critique. Dans la microsporogénèse aussi bien que dans la macrosporogénèse, le schéma suivant est bien établi. A l'équateur de la première figure, les chromosomes définitifs I s'insèrent de façon à *superposer* dans un plan méridien leurs deux branches constitutives. Celles-ci sont donc dirigées chacune vers un pôle différent ; ce sont elles qui se séparent l'une de l'autre à la Ire cinèse et constituent par conséquent les chromosomes-filles de cette cinèse. Durant l'anaphase, ou dès la métaphase, les chromosomes-filles montrent une division longitudinale parfaite, qui dans plusieurs cas s'était déjà indiquée à la prophase. Les bâtonnets parvenus au pôle ne constituent pas un peloton continu ; leurs extrémités demeurent libres. Malgré une série de transformations plus ou moins notables, les chromosomes conservent leur autonomie dans les noyaux-filles en partie reconstitués. Ensuite, dès le début du mouvement cinétique II, ils réapparaissent constitués chacun de deux chromosomes-filles qui ne sont autre chose que les moitiés longitudinales formées durant l'anaphase I. Ce sont ces chromosomes-filles qui se sé-

(1) Nous nous servirons ici des expressions abrégées : cinèse I, cinèse II, chromosomes I, chromosomes II, etc.

parent à la métaphase II. La première cinèse est donc *hétérotypique*, et la seconde *homéotypique*.

Chacun des points de ce schéma trouve encore maintenant des opposants, mais nous espérons montrer, dans notre travail critique, que c'est bien ainsi que les choses se passent.

Il y a toutefois une critique à laquelle nous voudrions répondre dès maintenant. Dans un travail récent sur les cinèses méristématiques de l'*Allium* (1), Miss Merriman se prononce contre la signification accordée par la plupart des cytologistes botanistes à la division longitudinale anaphasique des chromosomes-filles de la cinèse hétérotypique. L'auteur décrit, durant la reconstitution des noyaux somatiques, des transformations chromosomiques analogues à celles que nous avons observées nous-même dans le méristème des racines de *Trillium* (2). Nous avons décrit là une *alvéolisation* et une *réticulisation* progressives des bâtonnets, aboutissant à former aux dépens de ceux-ci le réseau chromatique du repos. Nous avons montré que c'est une telle alvéolisation qui a été prise plusieurs fois pour une division longitudinale des chromosomes-filles, par van Beneden et par Reinke dans les animaux, par Hof dans les végétaux. Nous avons de plus montré que la structure alvéolo-réticulée acquise par les chromosomes télophasiques n'est pas une structure que posséderaient normalement les chromosomes et qui aurait été masquée durant la période où les bâtonnets métaphasiques paraissent homogènes; au contraire, nous avons donné nos raisons de penser qu'il s'agit là d'une véritable vacuolisation, d'une véritable alvéolisation de chromosomes homogènes, par suite du dépôt à leur intérieur du liquide nucléaire. Des phénomènes semblables ont été observés par Merriman, mais l'auteur les interprète d'une tout autre façon : elle les considère comme l'acquisition par les chromosomes-filles d'une structure normale et très régulièrement ordonnée. Nous ne nous arrêterons pas ici à discuter cette interprétation; nous le ferons prochainement, lorsque nous publierons nous-même, comme nous l'avons annoncé, un travail d'ensemble sur cette question, dans un grand nombre de plantes. Nous n'avons à relever ici qu'un seul point, c'est le rapprochement que fait l'auteur entre

(1) *Vegetative cell division in Allium;* Bot. Gaz., March 1904.

(2) Grégoire & Wygaerts : *La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques*; La Cellule, t. XXI. — Les tirés à part de notre mémoire ont paru en juin 1903; le fascicule de la revue « La Cellule » qui contient ce travail n'a paru qu'il y a quelques jours.

les apparences télophasiques des chromosomes somatiques d'une part, et, d'autre part, la division longitudinale des *chromosomes-filles hétérotypiques*. D'après elle, ce que beaucoup de botanistes ont considéré comme cette division longitudinale, — caractéristique en partie de l'hétérotypie, — n'est pas autre chose que la transformation télophasique de tout chromosome-fille, même somatique, et par conséquent cette soi-disant division longitudinale hétérotypique n'aurait aucune signification spéciale.

Nous devons nous élever formellement contre cette assimilation. Ces deux phénomènes n'ont rien de commun.

En effet, quelle que soit l'interprétation que l'on adopte pour expliquer les transformations télophasiques des chromosomes somatiques, il est certain qu'il ne s'agit là en aucune façon d'une division longitudinale. Nous l'avons montré clairement pour le *Trillium*, nous le montrerons non moins nettement pour l'*Allium* et d'autres plantes. D'ailleurs, Miss MERRIMAN le reconnaît elle-même. Or, d'autre part, à l'anaphase hétérotypique, c'est bien une division longitudinale que subissent les chromosomes-filles; ceux-ci se clivent complétement et *les moitiés ainsi produites deviennent très nettement indépendantes l'une de l'autre*. Cela est très évident par exemple dans les fig. 19 *b* et *c*, 22, 23, 24, de GRÉGOIRE [1], dans les fig. 31, 32, 33, 35, 36, 126, 148, 149, de STRASBURGER [2], dans les fig. 6, 8, 21, de MOTTIER [3].

Mais il y a plus : à la télophase hétérotypique, on observe, *dans chacune des moitiés longitudinales*, les phénomènes d'alvéolisation et de réticulisation que montre chaque bâtonnet de cinèse somatique; nous en publierons bientôt de très beaux exemples, et d'ailleurs le fait a été signalé déjà par MOTTIER [3], p. 264, fig. 37, et par STRASBURGER [4], p. 9. Cela fait ressortir à toute évidence l'illégitimité de l'assimilation proposée par MERRIMAN; et il demeure tout à fait établi que les chromosomes-filles hétérotypiques, *à l'inverse des chromosomes-filles somatiques*, subissent une division longitudinale avant l'achèvement de la cinèse.

De tout cela il résulte que toute la question de la réduction numérique est maintenant ramenée à celle-ci : *quelle est la valeur des deux moitiés constitutives de chacun des chromosomes hétérotypiques*; la question se réduit, en d'autres termes, à l'étude de ce que nous avons appelé la première période.

(1) *Les cinèses polliniques chez les Liliacées*; La Cellule, t. XVI, 1899.

(2) *Ueber Reduktionsteilung, Spindelbildung und Cilienbildner im Pflanzenreich*. 1900

(3) *The behaviour of the chromosomes in the spore-mother-cells of higher plants*; Bot. Gazette, 1903.

(4) *Ueber Reduktionsteilung*; Sitzungsber. der K. Preus. Akad. der Wiss., 1904.

B. Formation des chromosomes hérérotypiques. (Première Période.)

Dans cette période même, nous croyons utile de distinguer encore, du moins pour les cas bien complets, *deux étapes*. Nous appelons cas complets ceux qui sont marqués par la présence, dans le noyau, à un certain stade, d'un peloton épais, apparemment indivis dans le sens de sa longueur, et constituant le spirème dans lequel la plupart des auteurs décrivent la division longitudinale [1]. Ces conditions se vérifient dans le *Lilium*, l'*Allium*, le *Convallaria* et beaucoup d'autres plantes. Dans ces cas, il faut distinguer, d'une part, les phénomènes qui, de la dernière reconstitution nucléaire sporogoniale, vont jusqu'à la formation du *spirème*, et, d'autre part, les phénomènes qui, aux dépens de ce spirème, édifient les chromosomes définitifs I. Ce sont là les deux séries de phénomènes qu'il faut élucider pour trancher la question des rapports entre les chromosomes définitifs et les chromosomes sporogoniaux et par là découvrir le mécanisme de la réduction numérique. Nous commençons par la seconde étape.

Seconde étape de la Ire période. Depuis le spirème épais jusqu'aux chromosomes définitifs.

La question qui domine cette étape est la suivante : les deux chromosomes-filles qui constituent chacun des chromosomes définitifs I représentent-ils des « moitiés longitudinales » du *spirème épais* ou bien sont-ils des tronçons transversaux de ce spirème?

« *Moitiés longitudinales* », disons-nous : mais, pour le moment, nous ne prenons pas cette expression dans son sens strict; nous faisons, ici, abstraction du point de savoir si le *dédoublement* longitudinal dont nous allons parler à propos du spirème épais est une vraie *bipartition* longitudinale, homologue de celle que subissent les chromosomes d'une cinèse somatique, ou si ce dédoublement n'est que la séparation à nouveau de deux filaments chromosomiques autonomes qui se seraient, à un stade antérieur, rapprochés intimement. Nous discuterons cette question seulement plus loin, en parlant du synapsis. Par « *dédoublement longitudinal* » nous vou-

[1] Nous avons montré (*La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques*; La Cellule, 1903) qu'il ne se produit pas de spirème continu à la prophase somatique. Nous pensons qu'il en est de même à la prophase hétérotypique. C'est pourquoi, en employant l'expression « le spirème », nous voulons simplement signifier le *stade spirématique* des chromosomes.

lons simplement signifier ici que chaque tronçon du spirème épais *devient double dans toute sa longueur.*

Dixon [1], Schaffner [2], Farmer-Moore [3], Gregory [4], Williams [5], et tout dernièrement Strasburger [6], — pour ne citer que les plus récents, — admettent que les chromosomes-filles I sont des tronçons transversaux du *spirème épais*, mais tous ces auteurs décrivent, pour expliquer la juxtaposition de ces tronçons transversaux, des mécanismes très différents et se passant à des stades très divers. — Les autres botanistes admettent au contraire que les chromosomes-filles I représentent des moitiés longitudinales du spirème épais et, tout récemment, J. Berghs s'est rallié à cette interprétation, en définissant, de la façon que nous venons de faire nous-même, le sens de l'expression : dédoublement longitudinal. — Dans son mémoire, Berghs discute de près les descriptions de Farmer-Moore et de Dixon : nous n'y reviendrons pas. D'ailleurs, en faisant ressortir ici encore la valeur des observations de Berghs, nous aurons exclu toute opinion faisant appel à un accolement entre tronçons transversaux du *spirème épais.* Nous aurons, par le fait même, exclu pour nos objets l'opinion de Schaffner, de Gregory et de Williams. Nous ne nous arrêterons ici qu'à la description de Strasburger. D'après le savant Professeur de Bonn, le spirème, dans le *Galtonia candicans*, subit un déboublement longitudinal, mais la fente ainsi produite ne tarde pas à s'oblitérer ; le spirème, redevenu longitudinalement indivis, se scinde transversalement en $\frac{n}{2}$ segments chromatiques ; chacun de ceux-ci s'étrangle ensuite en son milieu ; les deux branches ainsi déterminées se replient à des degrés divers l'une sur l'autre et constituent les deux chromosomes-filles de chacun des chromosomes définitifs. L'auteur admet un processus semblable pour le *Tradescantia* et le *Lilium*, avec toutefois quelques différences de détail.

Ainsi que nous l'avons déjà dit, le changement d'opinion du Professeur Strasburger nous a engagé à revoir de nouveau les préparations de Berghs, et, nous l'avouerons, la conviction où nous sommes de l'existence

(1) Dixon : *On the first mitosis of the spore mother-cells of Lilium*; Notes from the Botan. School of Trin. Coll Dublin (1901).

(2) *A contribution to the life-history and cytology of Erythronium*; Bot. Gazette, 1901. — *Contribution to the life-history of Lilium philadelphicum*; Bot. Gazette, 1897.

(3) (4) Loco citato.

(5) J. Lloyd Williams : *Studies in the Dictyotaceæ*; Ann. of Bot., 1904.

(6) Loco citato.

d'une cinèse réductrice, nous faisait désirer de rencontrer une conjugaison de chromosomes aussi simple que celle décrite par STRASBURGER. Mais notre nouvel examen, extrêmement minutieux, n'a fait que renforcer, avec une évidence complète, la conclusion de nos examens antérieurs : *dans le Lilium et l'Allium* [1], *la fente qui sépare les chromosomes-filles dans chaque chromosome définitif n'est pas autre chose que la -fente longitudinale- apparue dans le spirème épais*. Notre conviction est basée sur une sériation impeccable.

La coupe longitudinale d'une seule anthère de *Lilium speciosum*, passant par deux sacs polliniques, nous suffit. Nous renvoyons aux figures de J. BERGHS, qu'il est inutile de répéter ici.

Considérons d'abord une des loges; nous y trouvons, à une extrémité, le spirème non dédoublé, sortant à peine du synapsis dont il possède encore l'orientation caractéristique.

L'autre extrémité de la loge montre au contraire des noyaux contenant des chromosomes encore très longs et constitués de deux filaments *considérablement entrelacés* entre eux.

Or, entre ces deux extrémités, nous trouvons, échelonnées aux niveaux successifs, toutes les dispositions intermédiaires entre les deux dispositions que nous venons de dire.

Voici les principales étapes.

D'abord, les tronçons du spirème ne montrant pas de dédoublement clair. Puis, dans un même noyau, de semblables tronçons mélangés à d'autres qui sont déjà, du moins sur une certaine partie, constitués de deux filaments entrelacés. Plus avant dans la loge, tous les filaments chromosomiques de tous les noyaux présentent cette dernière structure. Plus avant encore, on observe cette constitution des chromosomes jusqu'au bout de la loge, en constatant en même temps un épaississement graduel et un raccourcissement concomitant des deux filaments entrelacés de chaque chromosome.

Jusqu'ici donc, on suit, *sans aucune interruption*, la fente longitudinale produite au début dans chaque filament spirématique : elle est, d'un bout jusqu'à l'autre, toujours très claire et toujours assez considérable.

Continuons notre étude par l'examen de la seconde loge.

A une extrémité, nous rencontrons les formes que nous venons de voir à la fin de la première loge. Ensuite, on observe, se faisant graduellement,

[1] Il faut y ajouter le *Convallaria*, comme nous le verrons plus loin.

le raccourcissement et l'épaississement de chacun des deux filaments entortillés dans chaque chromosome, et toujours on suit nettement la fente longitudinale qui les sépare. Peu à peu, par suite du raccourcissement que nous venons de mentionner, le degré de l'entrelacement diminue ; il ne comprend bientôt plus qu'un, deux ou trois tours de spire, et on arrive ainsi aux chromosomes définitifs, formés de deux bâtonnets-filles croisés en forme de X ou de Y, ou bien entrelacés une, deux ou trois fois. Jusqu'au bout la fente demeure nette; elle n'est plus à la fin aussi large qu'au début, — ce qui s'explique clairement comme une suite du raccourcissement et de l'épaississement des chromosomes-filles, — mais néanmoins elle demeure très claire jusque dans les chromosomes définitifs, *où elle sépare les chromosomes-filles*. En d'autres termes, on voit nettement, sans interruption, *les deux filaments entrelacés qui résultent du « dédoublement longitudinal » se raccourcir par une gradation insensible, et devenir les deux bâtonnets-filles entrelacés, qui constituent chaque chromosome définitif.*

La sériation, avons-nous dit, est offerte à souhait par les loges elles-mêmes. Mais les apparences sont si claires que, même en les supposant éparpillées sans ordre dans la cavité anthérique, il n'y aurait pas d'autre sériation possible que celle que nous venons d'esquisser. En réunissant toutes les formes observées et en rattachant une forme donnée à ses formes les plus voisines, il faut nécessairement arriver à cette sériation.

L'évolution du spirème que nous venons de décrire pour le *Lilium speciosum* n'est pas moins claire dans l'*Allium fistulosum*. Nous renvoyons aux figures de Berghs.

Ici encore un examen nouveau n'a fait que renforcer notre conviction [1].

Nous comparerons maintenant ces observations avec celles de Strasburger. Voyons d'abord ce qui concerne le *Lilium*. Strasburger fait remarquer qu'il a longtemps hésité au sujet de cette plante. Il a constaté que la division longitudinale du spirème s'y achève assez complétement. Mais néanmoins elle s'oblitère dans la suite. C'est lorsque le spirème, redevenu apparemment indivis, se scinde en chromosomes, que ceux-ci s'étranglent transversalement et replient l'une sur l'autre les deux branches ainsi délimitées.

[1] Pendant que nous rédigeons ces lignes, M. Berghs nous montre dans le *Convallaria* une sériation aussi impeccable et non moins claire.

Nous n'avons pas le moindre doute que cette interprétation ne s'applique pas au *Lilium speciosum*. Nous avons vu, comme STRASBURGER lui-même, la fente longitudinale complétement achevée et produisant des écartements considérables entre les deux filaments entrelacés (fait observé aussi par FARMER). Seulement, à l'inverse de STRASBURGER, nous ne voyons aucunement la fente longitudinale s'oblitérer; nous la suivons toujours nettement marquée et nous voyons de plus que c'est bien elle qui persiste entre les deux chromosomes-filles définitifs, ou en d'autres termes, que ceux-ci sont bien les deux moitiés qu'a séparées la fente longitudinale du spirème. Nous avons fait des efforts pour retrouver, dans les préparations, des aspects qui auraient pu plaider en faveur de l'hypothèse de STRASBURGER. Mais nous n'avons trouvé, malgré notre recherche minutieuse, aucune lacune, aucune interruption de continuité dans la sériation que nous avons décrite plus haut.

Nous ajouterons encore un mot au sujet du *Lilium*. STRASBURGER lui-même, en 1900, a publié une série parfaite de figures s'étendant depuis les bâtonnets longs encore et formés de deux filaments entrelacés, jusqu'aux chromosomes définitifs. Dans cette sériation, il n'y a aucune lacune, et il est évident que les deux filaments entrelacés qui constituent les chromosomes de la fig. 1 vont devenir par simple épaississement les bâtonnets-filles des chromosomes des fig. 14 et 15. Ce seraient donc les deux filaments entrelacés des chromosomes de la fig. 1 qui devraient, d'après la nouvelle interprétation de STRASBURGER, représenter deux tronçons transversaux du spirème. Or, d'abord, il suffit de considérer les fig. 1, 2 et 3 de BERGHS pour voir que ces deux filaments entrelacés sont bien les deux - moitiés longitudinales - du spirème. De plus, on comprendrait difficilement que le repliement en deux d'un tronçon chromosomique pût amener les deux branches à s'entrelacer *de la façon considérable* que montrent les chromosomes de la fig. 1 de STRASBURGER. Au contraire, cet entrelacement correspond tout à fait à l'entrelacement montré par les deux moitiés longitudinales du spirème.

Mais c'est surtout sur l'examen du *Galtonia* que STRASBURGER appuie son interprétation. C'est dans cet objet que l'auteur aurait surtout vu nettement la division longitudinale du spirème s'oblitérer, et les tronçons chromosomiques s'étrangler en leur milieu et replier l'une sur l'autre les deux branches résultant de cet étranglement. Nous avons nous-même observé quelques coupes de *Galtonia*. Malheureusement, elles ne montrent que les premiers stades de l'évolution de l'élément chromatique sporocytaire, et ne

s'étendent que jusqu'au spirème se dégageant du synapsis. Nous ne pouvons donc pas contrôler les observations de l'éminent professeur de Bonn. Toutefois, on nous permettra d'exprimer une remarque. Voici comment nous interprèterions la série des fig. 2-4 de l'auteur. La fig. 2 représente non pas un spirème continu, mais les chromosomes tout à fait individualisés, plus ou moins ramassés dans le centre du noyau, disposition que nous avons fréquemment observée, entre autres dans le *Trillium* (pollen) et le *Paris* (pollen). Dans les deux plantes que nous venons de mentionner, les chromosomes à ce stade laissent nettement reconnaitre les deux moitiés longitudinales qui les constituent. Seulement ces deux moitiés peuvent montrer les écartements les plus variables. Dans certains chromosomes, elles sont enlacées plus ou moins étroitement, mais dans d'autres elles ne se touchent que sur un espace très restreint et montrent dans le reste de leur étendue des divergences considérables, jusqu'à prendre la forme d'un V à bras extrêmement ouverts. Nous pensons que c'est un stade semblable qui est représenté dans la fig. 2 de STRASBURGER. Ce sont là les bâtonnets constitués déjà de leurs deux chromosomes-filles très écartés, et nous pensons que, en remontant la série des aspects vers le stade de la fig. 1, on verrait que les écartements entre les branches-sœurs des chromosomes de la fig. 2 se poursuivent jusque dans la fente longitudinale du spirème.

De ce stade de la fig. 2, on passerait à ceux des fig. 3 et 4 par un simple raccourcissement des chromosomes-filles.

Nous ne trouvons donc pas dans les nouvelles observations de STRASBURGER d'objection sérieuse à nos constatations si claires dans le *Lilium*, l'*Allium* et le *Convallaria*.

Nous concluons que les chromosomes-filles de la cinèse hétérotypique sont des « moitiés longitudinales » du spirème épais, dans le sens où nous avons défini cette expression de « moitiés longitudinales ».

Mais par là, la question de la valeur de ces chromosomes-filles est loin d'être tranchée. Elle le serait si le spirème épais prenait naissance de la même façon dont se produisent les cordons chromosomiques des cinèses somatiques. Or, il n'en est rien. Le spirème hétérotypique s'élabore au cours d'une lentepréparation et ce sont ces stades préliminaires que nous devons maintenant examiner, dans le but de voir si ce « dédoublement longitudinal » du spirème est réel ou apparent, s'il partage en deux un cordon réellement indivis, c'est-à-dire correspondant, *dans son épaisseur*, à un chromosome, ou si au contraire ce dédoublement n'est pas la réapparition

distincte de deux chromosomes somatiques d'abord amenés à un contact intime.

Première étape de la Ire période. Formation du spirème épais. Synapsis.

Toute la question qui reste à trancher est la suivante : *Comment se forme*, DANS SON ÉPAISSEUR, *le spirème définitif?* C'est dans la solution de cette question que nous découvrirons la valeur réelle des « *moitiés longitudinales* » du peloton, c'est-à-dire des chromosomes-filles I.

Nous avons encore confié à notre élève, M. J. BERGHS, il y a assez longtemps déjà, l'étude de cette question. Il l'a conduite à bonne fin dans un objet, l'*Allium fistulosum* (1). Le manuscrit du mémoire, où l'auteur décrit les phénomènes dans cette plante, est maintenant, en vue d'un concours, déposé entre les mains d'un jury. Nous prions le lecteur de considérer le résumé que nous allons donner des résultats de M. BERGHS comme une note préliminaire à son travail définitif. Voici ces résultats.

Le réseau nucléaire, provenu de l'alvéolisation des chromosomes de la dernière télophase sporogoniale, se résout d'abord en des filaments encore anastomosés. Les anastomoses se rétractent ensuite et les filaments plongent librement dans la cavité nucléaire. C'est pendant ce temps que se produit la contraction synaptique. Tout l'élément chromatique est ramassé d'un côté du noyau. La portion de cet amas où le tassement est plus considérable est assez indéchiffrable. Mais un certain nombre de filaments s'échappent de ce grumeau et courent dans la partie libre de la cavité nucléaire. D'autre part, on peut constater que l'amas presque indéchiffrable est formé, lui aussi, de filaments.

Tous les filaments chromatiques, à ce stade, sont minces. Mais on observe dans les parties dégagées un phénomène remarquable. En plusieurs points, on voit deux cordons chromatiques courir parallèlement l'un à l'autre, se montrer même plus ou moins entrelacés et ensuite se confondre en un seul cordon, d'une épaisseur double de celle de chacun des filaments minces (2).

(1) J. BERGHS vient d'arriver, pour le *Convallaria*, à des résultats concordant avec ceux de son étude sur l'*Allium*.

(2) Ces dualités de filaments minces ressemblent considérablement à celles qu'a décrites VON WINIWARTER dans l'ovocyte du lapin (Arch. de Biologie, 1900), mais apparaissent avec encore plus de netteté et de régularité. C'est à WINIWARTER que revient le mérite d'avoir le premier mis ces dispositions en relation avec la réduction numérique.

A ce stade fait suite le stade de spirème épais, — paraissant indivis dans sa longueur, — formant encore dans une partie seulement du noyau un amas plus dégagé que précédemment et dont beaucoup de portions se déroulent en anses régulièrement orientées dans la cavité nucléaire. Peu à peu, ce spirème envahit tout le noyau et, quelque temps après, montre les premiers indices du « dédoublement longitudinal ».

Berghs fait reposer toute l'importance du stade synaptique sur les apparences de dualité observée à ce moment dans les filaments. Il prouve d'abord que la sériation que nous venons de donner d'après lui est bien la seule possible; il fait voir, entre autres, que ces dualités doivent bien se placer avant le stade à spirème épais et ne peuvent par conséquent pas être confondues avec le stade du « dédoublement longitudinal » de ce même spirème épais. Ensuite il dégage le sens de ces dualités. Il montre que, n'étant précédées que d'un stade à filaments minces et aboutissant au contraire à un stade à filaments épais, elles ne peuvent avoir qu'une signification : celle d'un accolement, sur toute leur longueur, de deux filaments minces, donnant naissance, par le fait même, à un spirème épais.

J. Berghs trouve une confirmation de cette hypothèse dans la considération que seule elle explique la formation d'un spirème épais aux dépens de filaments minces. En effet, on n'observe nullement, ainsi qu'il faudrait s'y attendre dans une hypothèse contraire, un épaississement graduel des cordons minces. Les stades successifs sont simplement les trois suivants : filaments minces, filaments minces parallèles deux à deux, spirème épais.

Enfin la nature même du « dédoublement longitudinal » nous semble fournir encore un appoint nouveau à cette interprétation. Ce dédoublement en effet diffère *absolument* d'une division longitudinale somatique. Dans celle-ci, les deux moitiés sont toujours assez étroitement rapprochées. Dans l'hétérotypie, au contraire, les filaments jumeaux montrent souvent, *dès leur apparition*, des écartements considérables, extrêmement frappants. Il est presque évident à première vue qu'il n'y a pas là un filament unique qui se clive, mais plutôt qu'il s'agit de l'écartement de deux filaments autonomes entrelacés. Cela plaide très vivement en faveur de l'hypothèse d'un accolement antérieur qui se relâcherait en ce moment. Le fait, dont nous parlons maintenant, remarqué encore récemment par Farmer-Moore, a été, à deux reprises, relevé par Dixon, pour tenter de démontrer que les apparences prises par tous les auteurs comme la manifestation d'un dédoublement longitudinal du spirème épais sont, en réalité, dues à un repliement du spi-

rème sur lui-même. Nous avons montré plus haut que le *spirème épais* ne subit aucun accolement, et que par conséquent Dixon se trompe en ce point. Seulement nous sommes tout à fait d'accord avec lui pour admettre que le dédoublement longitudinal du peloton n'est pas une vraie bipartition longitudinale, et nous le considérons simplement comme la séparation à nouveau de deux filaments chromosomiques autonomes et réellement indépendants l'un de l'autre. La différence entre Dixon et nous, c'est que l'auteur anglais place l'accolement après le stade de spirème épais, et que nous le voyons au contraire dans un stade préparatoire à ce spirème.

Ajoutons encore que les formes si spéciales des chromosomes hétérotypiques définitifs trahissent une véritable indépendance des chromosomes-filles. Ceux-ci, en effet, montrent les écartements les plus considérables.

De tout cela il résulte que les filaments minces qui se dégagent du réseau nucléaire s'accolent deux par deux au stade synapsis, constituent ainsi des tronçons spirématiques en apparence simples, mais doubles en réalité; bientôt, lors du « dédoublement longitudinal », ils reparaissent plus ou moins indépendants, mais définitivement groupés deux par deux; ils deviennent ensuite, en se condensant, les chromosomes-filles de la Ire cinèse.

Nous ne sommes pas au bout; il reste une dernière question : quelle est la valeur de ces filaments minces qui s'accolent? A notre avis, il ne peut y avoir le moindre doute là-dessus. Il est certain que chacun de ces filaments représente un des chromosomes somatiques qui sont entrés dans la constitution du noyau, à la dernière télophase sporogoniale. Cela seul peut rendre compte de ce phénomène si spécial de l'accolement, se produisant précisément à la prophase de la première cinèse à nombre apparemment réduit de bâtonnets.

Strasburger, dans son étude récente du *Thalictrum purpurascens*, arrive à une tout autre interprétation du synapsis, bien qu'il le considère aussi comme le stade où se conjuguent les chromosomes somatiques. Nous ne pouvons pas discuter les observations de l'auteur sur cette plante. Nous ferons seulement remarquer que l'interprétation qu'il en déduit ne peut pas s'appliquer à *Lilium*, *Allium*, *Convallaria*. En effet, d'après cette interprétation, chaque tronçon spirématique serait bivalent dans le sens de sa longueur. Or, nous avons vu que dans ces plantes les tronçons spirématiques ne peuvent être bivalents que dans le sens de leur épaisseur. Cela n'empêche évidemment pas que, dans le *Thalictrum* et d'autres plantes sem-

blables, le même résultat final puisse être produit par une voie différente, celle qu'indique le savant professeur de Bonn.

C. Les cinèses de maturation dans leur ensemble.

Voici donc la marche des phénomènes dans les deux cinèses de maturation. A la prophase de la cinèse hétérotypique, au stade synaptique, les n chromosomes somatiques s'unissent deux par deux et constituent ainsi $\frac{n}{2}$ chromosomes bivalents. Ceux-ci, se plaçant à l'équateur du fuseau, sont dissociés en leurs chromosomes constitutifs, et la cinèse hétérotypique sépare les n chromosomes somatiques en deux groupes de $\frac{n}{2}$ chromosomes complets. Mais, *en même temps*, une caryocinèse normale somatique s'accomplit pour chacun des chromosomes somatiques conjugués. Chacun de ceux-ci, pendant que se fait leur séparation en deux groupes, subit une division longitudinale qui s'achève ensuite à la cinèse homœotypique, par la séparation des moitiés ainsi produites.

Nous allons développer cette conclusion en considérant de plus près certaints points.

1. D'abord, la réduction numérique de la prophase n'est qu'apparente; c'est une *Scheinreduktion*; chacun des soi-disant « chromosomes » hétérotypiques est *bivalent* dans le vrai sens du mot, c'est-à-dire constitué de deux chromosomes somatiques complets et destinés à se dissocier, au cours de la première cinèse, en ses deux chromosomes constitutifs. La vraie réduction ne s'opère que par cette dissociation elle-même et par conséquent la première cinèse doit être dite *réductrice*, c'est-à-dire *effectuant la réduction de nombre*.

2. Il faut définir le *synapsis* comme le stade où les n bâtonnets somatiques s'unissent deux à deux en $\frac{n}{2}$ chromosomes bivalents ou mieux *en* $\frac{n}{2}$ *paires de chromosomes*. Ce sens se rapproche de celui de Moore; seulement, tandis que ce dernier considérait l'union des chromosomes comme définitive, il faut au contraire envisager cette union comme le moyen qui permet à la cellule d'effectuer la réduction numérique, en lui permettant de partager, *par une caryocinèse*, les n chromosomes somatiques en deux groupes de $\frac{n}{2}$. C'est en effet ce sens qu'il faut donner à l'accolement synap-

tique, ainsi que l'ont déjà fait remarquer Rückert [1] et, avec plus de précision encore, Boveri [2].

3. Des deux cinèses de maturation une seule est spéciale, c'est la première ou cinèse hétérotypique. La seconde cinèse, l'homœotypique, est une cinèse ordinaire, une cinèse somatique, comprenant tous les stades d'une semblable division. Le caractère propre de la première, caractère qui doit servir à définir l'hétérotypie, c'est qu'elle *sépare des chromosomes somatiques complets, préalablement unis deux à deux à l'effet de permettre cette séparation.*

A vrai dire même, *la caryocinèse hétérotypique n'est pas une vraie caryocinèse*; l'expression de caryocinèse implique en effet une *propagation* des chromosomes, propagation qui se fait par le moyen d'une division longitudinale. L'hétérotypie n'est pour ainsi dire *qu'un « processus caryocinétique »*; c'est une accommodation du mécanisme caryocinétique au partage de n chromosomes complets en deux groupes de $\frac{n}{2}$.

Mais, dira-t-on, si le processus hétérotypique seul est spécial et a seul un rôle à jouer dans la réduction de nombre, pourquoi l'hétérotypie est-elle toujours accompagnée d'une cinèse normale? Pourquoi la caryocinèse hétérotypique ne clôture-t-elle pas la série des divisions qui donnent naissance aux spores?

Voici, croyons-nous, comment il faut se représenter les choses : il faut considérer l'hétérotypie comme un « processus réducteur » *intercalé dans la dernière cinèse sporogoniale.* Il faut considérer la cinèse homœotypique comme la dernière cinèse de la série de divisions qui, aux dépens des cellules archésporiales, doit donner naissance aux spores; seulement, à la prophase de cette dernière cinèse sporogoniale vient s'intercaler un processus réducteur qui fait en sorte que cette cinèse, au lieu de s'effectuer sur *un groupe de n bâtonnets*, s'effectue au contraire sur *deux groupes de* $\frac{n}{2}$ *bâtonnets*; et par conséquent fait en sorte que cette cinèse, au lieu de produire, comme ses devancières, *deux noyaux de n moitiés longitudinales*, produit au contraire *quatre* noyaux de $\frac{n}{2}$ *moitiés longitudinales.* L'utilité de cette intercalation du processus réducteur dans la prophase de la der-

[1] *Die Chromatinreduktion bei der Reifung der Sexualzellen*; Merkel's Ergebnisse, 1894, p. 582.

[2] *Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns.* Jena, 1904, p. 65.

nière cinèse sporogoniale se conçoit aisément : ce serait d'assurer plus efficacement l'existence, dans les spores, du nombre réduit de bâtonnets. Et le fait même que la conjugaison des chromosomes somatiques se produit à un stade très précoce, dès avant le stade spirème, serait aussi en rapport avec cette utilité. En effet, cette conjugaison hâtive des bâtonnets fait en sorte que les chromosomes de la dernière cinèse sporogoniale ne sont constitués que dans l'état d'association deux par deux et préparés ainsi au processus hétérotypique.

C'est pourquoi il faut dire encore plus que ce que nous venons de dire : il faut considérer les « *cinèses de maturation* » non pas comme deux cinèses consécutives, empiétant plus ou moins l'une sur l'autre, mais *comme une seule cinèse, — la dernière sporogoniale, — dans laquelle s'intercale un processus réducteur caryocinétique*, et qui par conséquent, au lieu de produire deux noyaux comme une cinèse ordinaire, en produit quatre. Et c'est pourquoi aussi nous n'avons pas indiqué, ainsi que le faisait récemment STRASBURGER, la division longitudinale anaphasique des chromosomes-filles I comme un des caractères du processus hétérotypique. Ce phénomène appartient en effet à la cinèse somatique dans laquelle s'intercale le processus hétérotypique [1].

Le fait qu'il se produit après la télophase hétérotypique une certaine reconstitution du noyau n'ébranle pas cette façon de concevoir les phénomènes. En effet, il est clair que les cas typiques sont ceux, — peu nombreux dans les végétaux, mais plus nombreux dans les animaux, — où l'homœotypie succède sans intervalle à l'hétérotypie et que, d'autre part, la reconstitution du noyau, presque toujours incomplète, peut se considérer comme un phénomène secondaire.

4. STRASBURGER, en 1894 [2], proposait de considérer comme le *point de départ du gamétophyte*, non pas les spores elles-mêmes, mais plutôt *les cellules-mères des spores*, les sporocytes I, ou d'après l'appellation de LOTSY [3], les gonotokontes, et cela parce que c'est dans ces cellules que se montre la réduction numérique des chromosomes. « The reduction in num-

(1) Il est bien clair que toutes ces considérations sont encore bien plus vraies, si l'on admet comme démonstratives — et certaines le sont, — les observations d'une division longitudinale des chromosomes-filles I *dès la prophase hétérotypique*.

(2) *The periodic reduction of chromosomes in living organisms;* Ann. of Bot., 1894.

(3) *Die Wendung der Dyaden beim Reifen der Tiereier als Stütze für die Bivalenz der Chromosomen nach der numerischen Reduktion*; Flora, Bd 93, 1904.

« ber takes place, among the higher plants, in the mother-cells of the spores, « and it is consequently these which must be regarded as the first term of « the new generation. » Cette manière de voir a été adoptée par plusieurs auteurs, entre autres, récemment, par COULTER et CHAMBERLAIN [1], par LOTSY et par KOERNICKE [2].

Une telle façon de considérer les choses n'est plus compatible avec les conclusions que nous avons établies touchant le mécanisme de la réduction numérique et nous pensons que STRASBURGER modifiera, en raison de ses nouvelles idées, sa manière de voir sur ce point. En effet, cette conception ne pourrait se défendre que dans le cas où la réduction numérique *serait réelle à la prophase hétérotypique*. Si cette dernière condition se vérifiait, on pourrait dire que la cinèse hétérotypique est la première qui s'effectue avec un nombre réduit de bâtonnets et que, par conséquent, elle inaugure le stade gamétophyte. Or, il n'en est rien : la réduction de la prophase hétérotypique n'est qu'apparente, ou même, à parler strictement, il n'y a, à la prophase, *aucune réduction* ; ce qui s'y produit, c'est une conjugaison des chromosomes 2 par 2, destinée à permettre à la réduction de se faire. Loin d'être la première cinèse à nombre réduit, la cinèse hétérotypique, ou mieux le processus cinétique hétérotypique, est *précisément le procédé qui effectue la réduction*, c'est-à-dire qui produit des cellules à $\frac{n}{2}$ bâtonnets, dont chacune sera le point de départ du stade gamétophyte. Celui-ci ne peut commencer qu'après l'achèvement de l'hétérotypie. Mais alors, dira-t-on, ce seront donc les *deux cellules* produites par l'hétérotypie, c'est-à-dire les sporocytes II, qu'il faudra considérer comme inaugurant le stade gamétophyte? Non pas, ce sont les 4 cellules de la tétrade. En effet, nous l'avons vu, le procédé hétérotypique réducteur n'est pas régulièrement une cinèse à part, c'est un processus intercalé dans la dernière cinèse sporogoniale, ayant pour effet que celle-ci, — comme nous l'avons déjà dit aussi, — au lieu de produire 2 noyaux de n moitiés longitudinales, produit au contraire 4 noyaux de $\frac{n}{2}$ moitiés longitudinales. La réduction n'est donc effectuée, typiquement, que dans chacun de ces 4 noyaux, et le point de départ de la génération à $\frac{n}{2}$ chromosomes, c'est en réalité chacune des 4 cellules de la tétrade.

---

(1) *Morphology of angiosperms*. New-York, 1903.

(2) *Der heutige Stand der pflanzlichen Zellforschung* ; Ber. d. deutsch. botan. Gesells., Bd XXI, 1903.

Tout cela n'est pas contredit, comme nous l'avons déjà fait remarquer plus haut, par les cas certainement secondaires, où l'hétérotypie et l'homœotypie sont séparées par un certain repos.

De même, ces considérations s'appliquent facilement au cas du sac embryonnaire, où la disposition typique comporte une tétrade de macrospores et où les cas de suppression du stade sporocyte (*Lilium*, etc.) s'interprètent aisément comme des adaptations secondaires.

Post-scriptum. Pendant que ces quelques pages étaient à l'impression, le Dr Rosenberg a eu l'amabilité de nous envoyer un tiré à part de son récent mémoire « *Ueber die Reductionsteilung in Drosera* ». L'auteur explique la réduction par une conjugaison des chromosomes 2 à 2 à la prophase hétérotypique, et décrit la première cinèse comme réductrice. Le mécanisme de la conjugaison chromosomique présente certaines analogies avec celui que décrit Strasburger et nous n'avons pas, dans nos observations personnelles, de quoi le contrôler. Nous voulons seulement ici relever deux points de la description de l'auteur, qui confirment nos propres conclusions. D'abord, Rosenberg ne se range pas, pour le *Lilium*, à l'interprétation de Farmer-Moore. Ensuite, l'auteur est porté à considérer le spirème de *Lilium* comme bivalent dans le sens de son épaisseur, et à admettre, pour les cas où les chromosomes sont longs, une interprétation du synapsis analogue à celle de Winiwarter. On voit qu'en ces deux points nos conclusions sont concordantes avec le sentiment de Rosenberg.

L'élément nucléinien pendant les divisions de maturation

dans l'œuf de l'Aplysia punctata

PAR

F. A. JANSSENS
PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ
DE LOUVAIN

& **G. A. ELRINGTON**
CANDIDAT EN SCIENCES NATURELLES
ASSISTANT AU LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

(Mémoire déposé le 15 mars 1904.)

L'élément nucléinien pendant les divisions de maturation

dans l'œuf de l'Aplysia punctata

Le but de ce travail est de décrire les formes absolument remarquables et démonstratives des chromosomes pendant les cinèses de maturation de l'œuf de l'*Aplysia punctata*. Le matériel de ce travail a été fixé par M. le Dr Lebrun pendant un séjour à la Station zoologique de Naples. Les figures décrites se trouvent dans le dernier tractus de l'oviducte et dans les œufs à peine pondus. L'enrobage réussit très difficilement et il est à remarquer que deux enrobages menés absolument de la même façon ne réussissent pas toujours. Nous avons obtenu les meilleurs résultats avec la nouvelle méthode au sulfure de carbone décrite par M. Heidenhain (1). La coloration à la méthode du même auteur donne de très bons résultats, mais a le désavantage de colorer très fort les plaques de vitelline. Cet inconvénient est diminué par la coloration à 72° C recommandée par l'un de nous (2), mais aucune méthode ne l'évite complétement.

Première cinèse de maturation.

Les premières *prophases* de cette cinèse sont d'une étude impossible dans cet objet. Le nucléole très colorable et probablement très nucléinien

(1) *Ueber Paraffineinbettung mit Schwefelkohlenstoff*, Zeitschrift f. wiss. Mikroskopie, Bd XVIII, p. 166.

(2) F. A. Janssens & Ad. Mertens : *Étude microchimique et cytologique d'une Torula rose*, La Cellule, t. XX, 2d fasc.

de la vésicule germinative en cache presque complétement les divers stades [1].

Au moment de la *disparition de la membrane* du noyau, on trouve dans l'aire nucléaire l'élément nucléinien sous la forme d'une ou plusieurs bandelettes noueuses. Il ne nous a pas été possible de démontrer *avec certitude* l'existence d'une division longitudinale de ces bandelettes; très souvent, nous y avons entrevu un tel clivage, d'une façon trop peu nette toutefois pour entraîner une conviction. Il est certain qu'une seule bandelette donne naissance à plusieurs chromosomes hétérotypiques juxtaposés, FIG. **1**, *c-d*, *e-f*, *g-h*, *i-j* et *k* [2]. La séparation complète suit de très près cette étape. Des *couronnes équatoriales* vues à plat à ce moment, FIG. **2**, nous ont permis à plusieurs reprises de compter le nombre de bâtonnets. Il est de 16 comme dans l'*Aplysia depilans* d'après BOCHENEK [3].

Les deux segments pairs qui les constituent sont parfois enroulés, FIG. **3** (dyade de droite), FIG. **4**, *d*, *l*; mais d'ordinaire les deux éléments sont droits et parallèles. Leurs extrémités sont le plus souvent libres, FIG. **1**, *a*, *b*, *e*, et FIG. **2**. Parfois, on voit les quatre bouts libres, FIG. **2**, *1*, *7*, *8*; parfois, deux bouts seulement sont visibles, *3*, *6*, *14*, même figure. Ces chromosomes sont d'ailleurs déjà insérés au fuseau et les ascensions polaires ont d'ordinaire commencé. C'est pour cette raison qu'à certains endroits le chromosome est indéchiffrable, FIG. **2**, *3*, *6*, *8*. D'autres montrent encore deux **V** superposés, FIG. **2**, *11*, *12*. Pour certains d'entr'eux, les anaphases sont déjà avancées et nous y voyons alors en raccourci des figures en croix à bras inégaux, FIG. **2**, *4*, *15*.

Des *anaphases* un peu plus avancées nous mettent devant les yeux des figures absolument semblables à celles décrites par beaucoup d'auteurs

(1) Les chromosomes sont très souvent en contact avec le nucléole, comme cela a été vu par GÉRARD dans le *Prostheceræus vittatus* (O. GÉRARD : *L'ovocyte de premier ordre du Prostheceræus vittatus;* La Cellule, XVIII, 1er fascicule). Nous avions même cru au commencement de cette étude que le nucléole jouait un rôle au moins nutritif dans la formation des chromosomes. Nous sommes maintenant absolument persuadés qu'il n'en est rien. Dans l'espèce que nous étudions en ce moment, cet organite disparait pendant la première cinèse. Il est rare qu'on le retrouve encore aux anaphases. Il n'en est pas ainsi dans d'autres espèces que nous avons observées et où la tache germinative gêne considérablement l'observation des phénomènes.

(2) Peut-être le cas que nous signalons ici est-il comparable à celui décrit par R. SCHOCKAERT dans le *Thysanozoon brocchi* (La Cellule, t. XX, 1er fasc., p. 136). Cet auteur émet l'opinion qu'une anse présentant une unité remarquable aux premières prophases de l'hétérotypie se scinde en plusieurs tronçons et fournit de cette manière plusieurs chromosomes.

(3) A. BOCHENEK : O Dojrzewaniu i zapłodnieniu jaja u slimaka *Aplysia depilans;* Akadem. Umiejetnos. w Krakowie, t. XXXIX. — Dans ce travail, écrit en polonais et que nous nous sommes donné la peine d'examiner avec un interprète, l'auteur ne dit rien de la question qui nous occupe.

dans l'hétérotypie des éléments mâles, tant dans les plantes que dans les animaux [1]. Nous appelons l'attention du lecteur sur la ressemblance absolument frappante de ces figures avec celles du lis et encore plus des spermatocytes des batraciens, FIG. 3 et 4 [2]. Les différentes figures s'expliquent en général par l'insertion au fuseau, comme dans les liliacées, les tritons, le *Batrachoseps* et les phasmes. Une insertion médiane donnera généralement des figures en losanges, FIG. 3 et FIG. 4, *e*, *f*; tandis qu'une insertion plus ou moins excentrique produira des figures en E à branches courtes comme les chromosomes, FIG. 3, *3*, et FIG. 4, *a*, *b*, *c* [3]. Cependant il y a un autre facteur qui joue ici un rôle pour donner leur figure aux chromosomes en ascension polaire, c'est l'adhérence plus ou moins grande des deux moitiés. Quand cette adhérence est complète sur toute la longueur, il se produira des croix à bras plus ou moins inégaux, FIG. 4, *h*, *i*, *j*, suivant que l'insertion aura été médiane, FIG. 4, *h*, *j*, ou excentrique, FIG. 4, *i*. Si l'adhérence est plus forte d'un côté que de l'autre, il pourra se produire des anneaux, comme FIG. 4, *g*, *k*, déjà figurés par JANSSENS dans les tritons, dont les branches les plus longues seront libres, tandis que les branches courtes restent soudées. A des anaphases plus avancées, ces chromosomes donneront des E à branches longues, FIG. 4, *m*. Nous appelons aussi l'attention sur la différence énorme de dimension des divers chromosomes, FIG. 4 [4].

Nous avons été assez heureux pour trouver de magnifiques V *doubles aux ascensions polaires*. Ils sont représentés dans les figures suivantes. Des images aussi belles que celles des FIG. 5, 7 et 8, sont assez rares dans notre objet, mais elles sont absolument démonstratives. Dans plusieurs cas, le nombre de chromosomes a pu être déterminé avec une entière certitude; il ne peut donc être question ici d'un accolement. D'ailleurs, les filaments rétracteurs uniques de tous ces V doubles indiquent avec

---

(1) Pour la littérature de cette question, voyez les travaux de GREGOIRE, JANSSENS et DE SINETY, dans cette revue.

(2) Les figures ne sont pas également belles dans toutes les pontes et, dans une même ponte, dans tous les œufs. Souvent les bâtonnets sont moins fournis et dans ce cas les figures se rapprochent beaucoup de celles du *Thysanozoon*. De plus, nous avons examiné plusieurs autres espèces d'*Aplysia*, qui donnent des figures beaucoup moins nettes.

(3) Nous ne pouvons admettre avec BRYCE que les figures en losanges proviennent comme les autres d'une insertion terminale des chromosomes avec division longitudinale aux premières anaphases (THOMAS H. BRYCE : *Maturation of the ovum in Echinus esculentus*; The Quat. Journal of microscop Science, vol. 24, part. 2, p. 213).

(4) Voyez à ce point de vue le travail de JANSSENS sur les tritons, et celui de JANSSENS & DUMEZ sur le *Batrachoseps*.

certitude qu'il s'agit ici d'un chromosome unique ayant subi un clivage longitudinal suivant toute sa longueur. Nous appelons surtout l'attention du lecteur sur les chromosomes, FIG. 5, *b*, *d*, FIG. 7, *a* (sectionné par le rasoir à la partie inférieure), et surtout sur l'anaphase, FIG. 7, *c*, et une analogue plus avancée, FIG. 8, *b*. Nous avons tâché de reproduire ces beaux objets avec toute la fidélité possible. Les préparations elles-mêmes sont plus belles encore. Le clivage se voit complétement dans le chromosome inférieur de la tétrade, FIG. 7, *c*. Cela est dû à cette circonstance particulièrement heureuse que le plan du V double inférieur est presque à angle droit avec le plan de celui d'au-dessus; le dessinateur peut plonger dans l'intérieur de la fente et voir les deux points d'inflexion séparés.

Nous osons affirmer que ces figures, quoique beaucoup plus petites que celles du *Batrachoseps attenuatus* (1), sont aussi claires et aussi démonstratives.

Dans beaucoup d'autres œufs, des faits analogues s'observent et on peut dire que dans les premières anaphases les bâtonnets présentent presque toujours des indices plus ou moins évidents d'un clivage longitudinal.

Aux *anaphases plus avancées* et même dans les *couronnes polaires bien formées*, cette division se maintient; les FIG. 9 et 10 en sont une preuve évidente.

Tous ces faits sont patents et il suffit d'appeler l'attention sur les figures pour en faire admettre tout l'intérêt. C'est la première fois à notre connaissance que des cas aussi évidents d'hétérotypie sont signalés dans les cinèses sexuelles des œufs.

Les seuls travaux qui aient décrit des V doubles lors de l'expulsion du premier globule polaire sont ceux de KING, 1901 (2), février 1902 (3), SCHOCKAERT, 1902 (4), LERAT, 1902 (5), et NEKRASSOFF, nov. 1903 (6).

(1) JANSSENS & DUMEZ : *L'élément nucléinien pendant les cinèses de maturation chez Batrachoseps attenuatus et Pletodon cinereus;* La Cellule, t. XX, 2d fasc.

(2) HELEN DEAN KING : *The maturation and fertilisation of the egg of Bufo lentiginosus*; Journal of Morphology, vol. XVII, no 2 (1901).

(3) Idem : *Preliminary note on the formation of the first polar spindle in the egg of Bufo lentiginosus* (11th Feb. 1902); Anatomischer Anzeiger, Bd XXI, no 15, 1902.

(4) R. SCHOCKAERT : *L'ovogénèse chez le Thysanozoon brocchi* (avril 1902, 2e partie); La Cellule, t. XX, 1er fasc.

(5) PAUL LERAT : *La première cinèse de maturation dans l'ovogénèse et la spermatogénèse du Cyclops strenuus* (juillet 1902); Anatomischer Anzeiger, Bd XXI, no 15.

(6) NEKRASSOFF : *Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Eies von Cymbulia peronii* (Nov. 1903); Anatomischer Anzeiger, Bd XXIV, no 4.

C'est à Miss HELEN D. KING que revient l'honneur d'avoir décrit pour la première fois ce phénomène dans les œufs [1]. Sa description est très semblable à celle que JANSSENS a donnée de ces phénomènes dans les testicules du triton et de la salamandre [2]. Ces deux auteurs voient aux premières prophases des anneaux qui subissent un clivage longitudinal. Celui-ci disparait dans la suite pour se remontrer aux anaphases. Ces anneaux se coupent en deux. Il se forme ainsi 24 demi-anneaux, qui bientôt prennent la forme de V lors des ascensions polaires. Aux anaphases, beaucoup de ces V montrent une division longitudinale. On trouve donc dans l'œuf du *Bufo lentiginosus* des V doubles aux couronnes polaires de la première cinèse de maturation. Les deux parties qui se séparent aux anaphases du premier globule sont celles qui se retrouvent aux métaphases du second.

SCHOCKAERT, 1902, retrouve à la métaphase de la première cinèse des croix et des anneaux, des bâtonnets en forme de poignard, et des chromosomes à deux crochets. Ces trois formes s'expliquent d'après lui par l'insertion des chromosomes au fuseau. Aussi observe-t-il aux couronnes polaires les trois formes décrites par GRÉGOIRE et consorts dans les plantes, c'est-à-dire 1° les V doubles dérivant des anneaux et des croix et se formant lorsque les chromosomes ont une insertion médiane; 2° les V simples dérivant des bâtonnets en poignard et correspondant à une insertion terminale; ces V se coupent à la pointe; et enfin 3° des V à queue dérivant des bâtonnets à deux crochets et correspondant à une insertion subterminale, dont l'une des deux branches seule se serait divisée longitudinalement [3]. Cette description, comme on le voit, ressemble beaucoup à ce que nous observons dans l'*Aplysia*. La différence entre ces deux animaux réside dans l'absence d'insertion terminale dans l'*Aplysia* [4]. Ces bâtonnets jumeaux se retrouvent à la deuxième cinèse de maturation.

LERAT, 1902, retrouve les mêmes figures dans l'œuf de cyclops et il en tire un argument convaincant contre les interprétations de HÆCKER et

(1) GRIFFIN (*Studies on the maturation.... of Thalassema and Zirphæa;* Journal of Morphology, 1899) n'est pas parvenu à les mettre en évidence.

(2) F. A. JANSSENS : *La spermatogénèse dans les tritons* (1901); La Cellule, t. XIX, 1er fasc. Comparez les fig. 9 et 22 de ce travail avec les fig. 25 et 26 de KING, 1901.

(3) Je pense que ces dernières figures peuvent correspondre à une insertion médiane de deux chromosomes-filles, qui se seraient soudés à une extrémité seulement (A. JANSSENS).

(4) Les bâtonnets, FIG. 6, *e*, pourraient être considérés comme provenant d'un chromosome en insertion terminale et clivé suivant toute sa longueur. Nous ferons remarquer que ces chromosomes sont coupés par le rasoir, comme aussi *b* (au milieu et *c* (en bas).

Rückert sur cet objet. Il n'a pas poussé ses recherches au-delà des anaphases de la première cinèse.

Dans une note préliminaire très importante illustrée de 16 figures, A. Nekrassoff publie une étude sur un ptéropode méditerranéen. Il y trouve comme nous 16 chromosomes dans la première figure de maturation. Ses figures de la métaphase se rapprochent beaucoup des nôtres et son interprétation ne diffère que dans des détails de seconde importance. Il ne signale toutefois les divisions longitudinales qu'aux anaphases complètes et sa fig. 10 est loin d'avoir l'évidence et la beauté de nos fig. **5** à **10**.

Ces diverses études concordent toutes et tendent à faire admettre comme définitivement démontré que *la première cinèse se fait, tant dans les éléments mâles que dans les œufs, suivant un type uniforme qui, dans les grandes lignes, correspond à l'hétérotypie de* Flemming.

Deuxième cinèse de maturation.

Les chromosomes doubles résultant de la première cinèse sexuelle se rapprochent aux pôles pendant les *dernières télophases*, mais ne se soudent ni ne se vacuolisent. Tant dans le globule que dans l'œuf, fig. **11**, on peut reconnaître toujours certains filaments jumeaux des télophases de l'hétérotypie. Le noyau ne se reforme pas et l'amphiaster de la deuxième cinèse sexuelle retrouve les bâtonnets pairs à peu près dans la situation qu'ils occupaient à la fin de la première figure, fig. **12** *a* et *b*. Leur courbure et leur forme de **V** doubles ne peuvent s'expliquer autrement. Il est difficile de voir si les filaments du fuseau restent attachés aux **V** pendant cette période. Cela ne semble pas devoir être, car à la métaphase on observe des points de courbure, où ils sont plus rapprochés et où par conséquent ils avaient été probablement attachés pendant la première cinèse, fig. **14**, *b, d, ef, h*, et fig. **15**, *b, c, e*. Ces points ne coïncident souvent pas avec les endroits d'insertion actuels.

Ici encore nous retrouvons les mêmes insertions et les mêmes différences entre les grandeurs relatives des chromosomes, par conséquent aussi les mêmes inégalités de longueur des deux branches qu'aux métaphases de la première cinèse. La simple inspection des figures en dit plus qu'une description fastidieuse.

Nous pouvons donc dire que *la deuxième cinèse de maturation dans les œufs de l'Aplysia punctata est absolument semblable aux cinèses ana-*

logues dans les éléments mâles des deux règnes, et qu'elle se fait, sauf les détails, d'après le type décrit par FLEMMING *sous le nom d'homœotypie.*

Après cette dernière cinèse, les chromosomes prennent la forme vésiculaire. Ces diverses vésicules se soudent pour former le pronucléus femelle. Pendant ce temps, la tête du spermatozoïde se développe et finit bientôt par atteindre le volume et les dimensions du noyau femelle.

Nous avons observé que le spermatozoïde entoure souvent les figures de maturation.

Notre FIG. 17 reproduit un œuf particulièrement complet. On y trouve le premier globule polaire divisé, le second globule et les deux pronucléi. Nous remarquons avec NEKRASSOFF qu'à ce moment on ne trouve aucune trace de figure achromatique pour la première segmentation.

EXPLICATIONS DES FIGURES.

*Les dessins ont été faits à la hauteur de la table de travail. Tous leurs détails ont été pris à la chambre claire d'*ABBÉ, *avec l'apochromatique* 2 *mm.*, *ouv. num.* 1,30, *oculaire compensé* 18 *de* ZEISS. *L'éclairage était obtenu par la lampe* NELSON *de* SWIFT, *le condensateur à immersion de* BECK, *le bull's-eye aplanatique de* BAKER *et le filtre de lumière en biseau décrit par* JANSSENS.

FIG. **1**. Prophase. Les bâtonnets *c-d*, *e-f*, *g-h*, *i-j* et *k* sont encore réunis.

FIG. **2**. Métaphase. Vue polaire d'une couronne équatoriale.

FIG. **3**. Métaphase. Dessin fait à l'oculaire 12.

FIG. **4**. Métaphase. Les chromosomes *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, à l'oculaire 12, appartiennent à un même œuf, les chromosomes *g*, *h*, *i*, *j*, *k* à un second œuf, *f* à un troisième et *l*, *m* à un quatrième.

FIG. **5**. Ascension polaire. Commencement du clivage longitudinal des chromosomes-filles.

FIG. **6** Anaphase. Le chromosome *b* est coupé par le rasoir en son milieu à droite, *c* à sa partie inférieure, *c* à leurs extrémités. Les parties manquant ici se retrouvent dans la coupe suivante du même œuf.

FIG. **7**. Anaphase. *a* est coupé par le rasoir à la partie inférieure.

FIG. **8**. Anaphase un peu plus avancée.

FIG. **9**. Couronne polaire à **V** doubles à insertion subterminale se correspondant aux deux pôles.

FIG. **10**. Télophases. Les **V** doubles se voient très bien. Les deux parties sont un peu plus rapprochées dans cet œuf. Les bâtonnets *d* et *d'* se trouvaient à la place des *. *d'* est coupé par le rasoir.

FIG. **11**. Dernières télophases.

FIG. **12**. *A* et *B*. Prophases de la 2e cinèse. Les **V** doubles se retrouvent surtout en *A* dans le globule polaire et en *B* dans l'œuf.

FIG. **13**, *A*. Vue polaire d'une métaphase de la deuxième cinèse Le premier globule polaire se trouve deux coupes plus bas. On compte 16 groupes de **V** doubles.

B. Les 16 faisceaux rétracteurs dans la même coupe, l'objectif étant installé plus bas.

C. Coupe suivante. On y retrouve, outre les 16 faisceaux rétracteurs, des parties de bâtonnets manquant à la FIG. *A* en *1*, *2*, *3*. Remarquons que le bâtonnet *1* a été coupé longitudinalement en deux par le rasoir, la moindre partie se trouvant dans la coupe *A* et la plus grande dans la coupe *C*.

FIG. **14**. Métaphase. Le chromosome double *c* n'est pas encore à l'équateur.

FIG. **15**. Anaphase. Remarquez que les deux extrémités des deux **V** *e* ont conservé leur parallélisme.

FIG. **16**. Télophase de la deuxième cinèse.

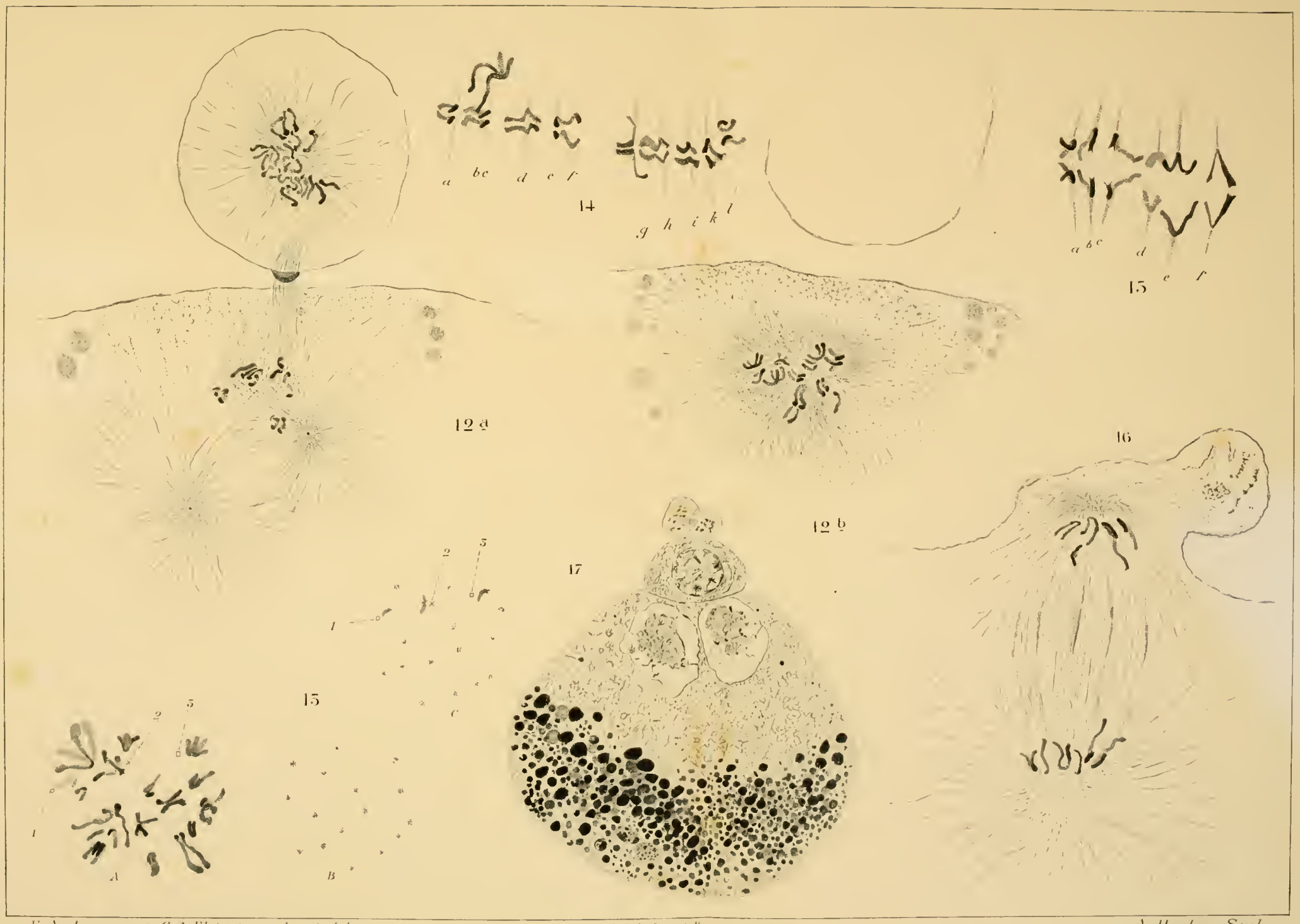
FIG. **17**. Œuf montrant le premier globule polaire divisé avec le reste du fuseau, le second globule avec le reste de son fuseau et les deux pronucléi.

Planche I.

F. A. Janssens & G. A. Elrington ad. nat. del.

Lith. L. Mousset, Brux.

A. Hocha Scul.



F. A. Janssens & G. A. Elrington ad nat del.

Lith. L. Mousset Brux.

A. Hachu. Scul.

LA DISPARITION DU BIOS DE WILDIERS

DANS LES CULTURES DE LEVURE

PAR

le Dr Abel AMAND

Travail du Laboratoire de Biochimie de l'Institut Carnoy a Louvain

(*Déposé le* 8 *juin* 1904.)

La disparition du Bios de Wildiers

DANS LES CULTURES DE LEVURE

INTRODUCTION.

Rappelons en deux mots ce qu'on entend par le « bios de WILDIERS ».

En 1901, le Dr WILDIERS [1], travaillant au laboratoire de biochimie de l'Institut CARNOY, a reconnu que le milieu minéral sucré de PASTEUR ne permettait guère aux levures de bière pures de se développer et de fermenter promptement, si on ne l'additionnait pas, en quantité suffisante, d'une substance inconnue qu'on peut extraire par ébullition des levures mêmes. L'influence de cette inconnue, que WILDIERS a nommée provisoirement « bios », est si *manifeste* que, malgré de vives discussions à son sujet, son existence n'a pas été mise en doute, et elle est tellement *forte* qu'aucun des éléments connus n'exerce une action comparable.

A en juger par les articles qui ont paru dans le *Wochenschrift für Brauerei*, par WINDISCH [2], les *Annales* de FERNBACH [3], et même la *Revue Scientifique*, 1903 [4], ce sujet a vivement intéressé les biologistes.

(1) La Cellule, t. 18, fasc. 2, 1901.

(2) Wochens. f. Brauerei, 1902, nos 1, 24, 37, 1903, no 3.

(3) Ann. de la Brasserie et de la Distillerie, 15 nov. 1901, 25 mars 1902 et 1903, no 2.

(4) Revue scientifique, 1903, 21 février.

L'analyse chimique de ce qu'est le bios s'annonce comme très longue d'après les renseignements préliminaires mêmes que WILDIERS a pu en donner : solubilité dans l'eau et l'alcool légèrement aqueux, impossibilité de le précipiter directement par l'acétate de plomb, le chlorure de mercure, l'acide phospho-molybdique. Aussi nous avons tenu à nous éclairer sur le modus agendi du bios sans tendre directement vers son analyse.

Dans un premier mémoire, nous nous sommes occupé de l'hypothèse, fort prônée dès 1902, tendant à faire jouer au bios le rôle d'un contrepoison. Nos expériences ont rendu cette hypothèse si improbable que ses promoteurs mêmes l'ont reconnu [1] : « *l'hypothèse du poison neutralisé par le bios doit donc être abandonnée* ».

Nous devons une mention spéciale au rapport de WINDISCH sur notre premier travail.

Le savant critique berlinois, à l'impartialité et à la science duquel nous rendons hommage, a reproduit in extenso dans la *Wochenschrift für Brauerei*, 1902, n° 37, toutes nos premières expériences. Il les soumet à une révision scrupuleuse, spécialement nos expériences sur le sucre et le cuivre.

Nous croyons qu'il y a moyen de concilier toutes les critiques de WINDISCH avec nos propres conclusions, c'est-à-dire l'improbabilité extrême d'un jeu de contrepoison exercé par le bios, du moins dans le sens de l'hypothèse objectée.

WINDISCH croit notamment, d'après nos expériences mêmes, que notre sucre contient un léger poison. Cela n'est pas exclu, mais ce poison est très faible et même incertain ; et ce n'est certes pas contre lui que doit s'exercer l'action du bios, car, en triplant la dose du sucre (et de son poison par conséquent), il n'est guère nécessaire d'augmenter la dose de bios pour obtenir une fermentation quasi identique.

WINDISCH croit aussi que, pour mitiger l'action nocive du cuivre, le bios ou l'extrait de levure peut être utile. Nous en sommes persuadé, et nous pourrions citer ici plusieurs travaux, relativement anciens, sur la toxicité du cuivre et de la bouillie bordelaise, travaux concernant la viticulture,

---

[1] Annales de la Brasserie, 1903, n° 2, article non signé.

qui ont échappé aux objectants de la toxicité du cuivre comme à nous-même [1].

Pour notre sujet, nous n'avions qu'à prouver que, dans les cultures telles que nous les faisions, il n'entrait pas de dose nocive de cuivre, ce que nous avons amplement démontré.

Dans ce second mémoire, nous rassemblons les expériences qui renseignent sur la disparition du bios dans les milieux de culture où la levure se multiplie et fermente. C'est la première question à résoudre quand on veut élucider l'utilisation du bios : si le bios ne disparaissait pas, son rôle alimentaire deviendrait improbable d'emblée; si le bios disparaît, il reste possible qu'il s'agisse d'un aliment inconnu.

Cette question est devenue encore intéressante pour d'autres raisons.

Kossowicz [2] a constaté que les cultures de microbes fabriquent du bios, ou du moins une substance qui a les mêmes influences sur les cultures de levures. Des expériences inédites de Wildiers et des contrôles que nous avons exécutés confirment ce fait et nous ont prouvé même que beaucoup de microbes fabriquent du bios dans une mesure bien plus large que ne l'indiquent les expériences du chercheur viennois. Nous étions donc en droit de nous demander si peut être les levures ne faisaient pas en petit ce que les microbes font en grand; si, en d'autres mots, la levure ne fabriquait pas de bios.

Division du mémoire.

Nous divisons cet exposé en deux chapitres.

Dans le premier, nous nous occuperons exclusivement du bios dissous dans le milieu liquide de la culture; nous verrons comment on peut juger de sa présence ou de son absence, et nous constaterons finalement sa disparition rapide.

Dans le second chapitre, nous rechercherons le bios qui se trouve toujours plus ou moins abondant à l'intérieur des cellules vivantes de levure.

[1] Rommier, C. R., 1899; Pichi, Nuova Rass. etc., Conegliano, 1891; Biernacki, Pflüger's Arch., 1891, p. 112, XLIX; Pottevin, Ann. Pasteur, 1894, p. 796, et Mann, ib., p. 785; Krüger, Centralbl. f. Bact., II. Abth., Bd I, p. 10, 1895. Ces travaux montrent que le cuivre n'est pas si toxique et se fixe rapidement sur les cellules.

[2] Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Œsterreich, 1903, VI.

Nous doserons la richesse habituelle en bios des levures commerciales qui ont vécu dans des milieux surchargés de cette substance; puis nous les comparerons à nos levures vivant en milieu dosé. Nous verrons en même temps que le bios disparu du milieu de culture n'est pas emmagasiné *comme tel* à l'intérieur des cellules de levures.

Préliminaires sur le dosage du bios.

Au cours de notre exposé, nous devrons fréquemment apprécier des *doses* de bios, du moins approximativement. Il nous faut donc renseigner le lecteur sur notre manière d'évaluer la richesse en bios d'un milieu de culture.

Wildiers et nous-même, nous avons jugé de l'activité de la substance introduite dans les cultures par le dégagement quotidien de CO_2, qui se mesure si exactement par la pesée.

Nous savons qu'il y a d'autres manières d'évaluer l'activité vitale d'une culture de levure. Dans certains laboratoires, on préfère doser l'alcool, ou faire la numération des globules de levure, ou la pesée en masse de la levure formée.

Kossowicz reproche à Wildiers d'avoir mesuré uniquement la perte de CO_2. Il fait lui-même quelques rares dosages d'alcool et des numérations de cellules et ses expériences de contrôle confirment complétement les résultats de Wildiers.

Mais si l'on parcourt le travail de Kossowicz, on voit dans la plupart de ses séries d'expériences qu'il ne nous laisse juger de la marche des cultures que par la perte quotidienne de poids, absolument comme nous-même.

Nous avons de sérieuses raisons pour ne recourir ni au dosage de l'alcool, ni à la numération des cellules de levures. Aucune des deux méthodes ne nous permettrait d'abord de faire régulièrement l'observation et l'évaluation *quotidiennes*. Nous avons fait nous-même de nombreuses pesées de levures et nous savons que la quantité de levure formée n'est pas proportionnelle à la richesse en bios du milieu de culture; il y a d'autres facteurs qui interviennent ici.

Nous nous baserons donc sur l'expérience empirique si nette que nous avons acquise en observant de nombreuses séries de cultures.

La préparation de l'extrait de levure se fait commodément comme suit : nous prenons un paquet de levure commerciale soi-disant sèche pesant une

livre (nous avons toujours pris les levures de la même firme : levure royale de Delft), nous concassons grossièrement ce bloc de levure dans un litre d'eau environ qui est chauffé à l'ébullition. A l'ébullition, toute la levure se répartit uniformément : filtration ordinaire, concentration au bain-marie et seconde filtration. Cet extrait concentré à consistance sirupeuse se conserve longtemps à l'air, comme l'extrait de viande.

La dose de bios introduite dans les cultures se dénonce presque mathématiquement, pendant la période de forte fermentation, par les pertes quotidiennes maximales en CO_2. Ainsi dans la série suivante, c'est aux chiffres imprimés en gras qu'il faut faire attention : ils représentent la perte en poids survenue en 24 heures à la période où la fermentation est le plus accentuée.

Prenons comme exemple une série de 6 de nos milieux ordinaires, soit : 125 cc. d'eau distillée chargée des sels alimentaires et 2 morceaux de sucre blanc scié du commerce (ce qui équivaut très approximativement à 10 gr^s), additionnons y respectivement les quantités suivantes d'une solution d'extrait de levure : 1/8, 1/4, 1/2, 1, 2, 4 cc., stérilisons, ensemençons avec 1/15 cc. d'une émulsion de levure, et par des pesées quotidiennes notons la perte en CO_2.

JOURS	Expérience 1. 125 cc. liq. min. 10 gr. sucre 1/8 cc. bios.	Expérience 2. 125 cc. liq. min. 10 gr. sucre. 1/4 cc. bios.	Expérience 3. 125 cc. liq. min. 10 gr. sucre. 1/2 cc. bios.	Expérience 4. 125 cc. liq. min. 10 gr. sucre. 1 cc. bios.	Expérience 5. 125 cc. liq. min. 10 gr. sucre. 2 cc. bios	Expérience 6. 125 cc. liq. min. 10 gr. sucre. 4 cc. bios.
2	0.00	0.10	0.30	0.50	1.00	1.20
3	0.05	0.30	0.40	**1.60**	**2.10**	**2.20**
4	0.10	**0.50**	**0.80**	**1.20**	0.80	0.85
5	0.20	**0.40**	**0.70**	0.50	0.20	0.25
6	0.20	**0.40**	**0.50**	0.20	0.20	
7	0.25	**0.40**	0.40	0.10		
8	0.20	**0.50**	0.30			
9	0.20	0.45				
10	**0.30**	0.50				
11	0.25	0.35				

Voici une deuxième série d'expériences dans le même ordre d'idées avec *un autre* extrait de levure.

JOURS	Expérience 2*a* 125 cc sol. min. 10 gr. sucre. 1/4 cc. bios.	Expérience 3*a*. 125 cc. sol. min. 10 gr. sucre. 1/2 cc. bios.	Expérience 4*a*. 125 cc. sol. min. 10 gr sucre. 1 cc. bios.	Expérience 5*a*. 125 cc. sol. min 10 gr. sucre. 2 cc. bios.
3	0.10	0.10	0.10	0.10
4	0.00	0.10	0 20	0.40
5	0.30	0 60	**1.40**	**1.90**
6	**0 50**	**0 80**	1.05	1.20
7	0.40	0.75	0.70	0.30
8	0.40	0.50	0.45	0.20
9	0.40	0.50	0.20	Fini.
10	0.45	0 30	Fini.	

Pour les cultures de 125 cc. chargées d'environ 10 gr. de sucre, on voit que la progression géométrique de bios introduit fait varier dans une progression plus ou moins régulière les pertes quotidiennes maximales que les cultures subissent dans leur poids. Ces pertes maximales quotidiennes sont dans la 1re série 0,30, 0,50, 0,80, 1,60, 2,10, 2,20 et dans la 2e 0,50, 0,80, 1,40, 1,90; par expérience, nous pouvons affirmer que c'est toujours pour les doses moyennes de bios que la distinction est la plus nette entre deux doses successives; dans l'exemple ci-dessus, 1/2 cc. de bios a donné une perte maximale de 0,80 en un jour, tandis que 1 cc. de bios a permis une perte maximale de 1,60 dans l'une série et de 1,40 dans l'autre. Les cultures moins riches ou plus riches donnent déjà souvent des résultats moins distincts les uns des autres. Voilà le résultat constant de notre expérience empirique.

Or, une perte en poids d'environ 1,50 en 24 heures représente déjà une très belle fermentation pour des cultures de 125 cc. ne contenant que 10 grs de sucre. Nous appellerons *une unité de bios* la quantité capable de provoquer cette fermentation pour un milieu de culture de 125 grs.

Ainsi, dans les extraits de levure qui ont servi à faire les séries pré-

cédentes, nous disons que 1 centimètre cube contient environ une unité de bios. On ne peut espérer un dosage plus approximatif de cette substance; beaucoup d'agents physiologiques, qui ne se reconnaissent qu'à leurs effets, ne se dosent pas mieux : les dosages de la pepsine et de la thyroïdine ne sont pas plus approximatifs. Nous croyons ces données suffisantes pour l'intelligence de notre travail, et nous passons à l'exposé de nos expériences.

CHAPITRE I.

Disparition du bios du milieu liquide de la culture.

Avant de présenter les expériences qui déterminent la disparition du bios du milieu liquide de la culture, il nous faut renseigner le lecteur sur les auto-intoxications qui se produisent par le développement de cultures répétées sur un même milieu.

D'après les données connues, on peut prévoir une influence de l'alcool qui, déjà à dose de 5 %, retarde la fermentation. Ce facteur n'intervient pas encore après une première fermentation, et nous pouvons toujours l'écarter en chassant l'alcool par la chaleur. L'acidité croissante des milieux reste trop faible pour devenir nuisible aux levures, qui vivent très bien en milieu légèrement acide. Les acides gras élevés, butyriques, valériques, font à peu près défaut dans nos cultures *pures*. Enfin, la neutralisation des acides se fait toujours en partie par le $CaCO_3$.

Des poisons inconnus s'accumulent certes à la longue dans les milieux de culture, mais il y en a bien moins qu'on ne l'a pensé. En effet, dans un milieu qui a fermenté, c'est précisément *le manque de bios*, comme nous le verrons, qui retarde le développement de la nouvelle culture de levure qu'on veut y produire. Nous supposons évidemment qu'on ne laisse jamais manquer le sucre, ni les sels minéraux reconnus nécessaires à la levure.

Suivons, pour nous orienter, quelques répétitions de fermentations et de culture sur un même milieu.

Ensemençons des milieux minéraux sucrés de 125 cc. et additionnés de 1 cc. bios, et nous avons une première marche qui fournit les données suivantes.

Première marche.

JOURS.	Expérience 7. 125 cc. milieu ordinaire. 10 gr. sucre. 1 cc. bios.	Expérience 8. 125 cc. milieu ordinaire 10 gr. sucre. 1 cc. bios.
2	0.80	0.90
3	1.30	1.20 (1)
4	1.60	1.20
5	0.40	0.40
6	0.20	0.20

Le premier arrêt de la fermentation est dû uniquement à l'absence de sucre. Même le ralentissement final de la fermentation des derniers jours n'est pas un signe de maladie de la part de la levure; il est dû uniquement à ce fait que le sucre restant est en trop faible concentration. L'optimum d'utilisation rapide du sucre est près de 8 à 12 %. En additionnant alors aseptiquement à ces cultures 10 gr^s de sucre en solution stérilisée, la culture recommence une seconde fermentation rapide.

Deuxième marche : après addition de sucre.

JOURS.	Expérience 9. Milieu d'exp. 7. + 10 gr. sucre.	Expérience 10. Milieu d'exp 8. + 10 gr. sucre.
1	1 20	1.20
2	1.60	1.20
3	0.50	0.85
4	0.30	0.65

La marche de la fermentation a donc encore été rapide, sans qu'on puisse reconnaître un affaiblissement marqué. Mais la troisième marche dans les mêmes conditions marquera bien qu'une entrave à la fermentation s'introduit peu à peu. En effet :

(1) Nous n'avons vu que rarement des différences de marche aussi notables entre deux cultures identiques : mais cela arrive. La rareté du fait nous fait croire qu'il est dû souvent à une distraction dans la préparation du milieu, ou dans la pesée : parfois peut-être à un défaut du barboteur.

Troisième marche : après deuxième addition de sucre.

JOURS.	Expérience 11. Milieu d'exp. 9. + 10 gr. sucre.	Expérience 12. Milieu d'exp. 10. + 10 gr. sucre.
1	0.20	0.20
2	0.40	0.55
3	0.60	0.60
4	0.70	0.50
5	0 60	0.30
6	0.30	0.30
7	0.20	0.20

Ce qui entrave cette fois la fermentation, ce n'est pas un poison fixe, comme nous le verrons par l ensemble des expériences ultérieures, car l'ébullition chasse ce poison, qui est probablement l'alcool.

Constatons un autre fait : la levure formée après ces 3 marches successives *est capable de faire fermenter le sucre sans l'assistance de quantité notable de bios.*

Ainsi, prenons la levure filtrée à l'abri de l'air infecté et additionnons la à un milieu de culture ne contenant que de l'eau, les sels minéraux et du sucre, sans bios ; nous obtenons la marche suivante.

JOURS.	Expérience 13. Levure de l'expérience 12 recueillie aseptiquement, remise sur un milieu artificiel frais sans bios.
1	0 60
2	1.50
3	1.30
4	1.00
5	0.30

Cette levure est donc vivante et capable de mettre en fermentation le sucre d'un milieu minéral dépourvu de bios.

Donc, cela nous apprend simplement que les expériences 9, 10, 11, 12,

ne sauraient nous renseigner sur la persistance du bios dans le milieu liquide d'une culture, après une première fermentation.

Pour nous éclairer sur la disparition du bios du milieu liquide qui nourrit une levure, il faut 1° enlever par filtration la levure formée après la première marche; il faut 2° additionner du sucre au filtrat *sans bios*; 3° il est avantageux de stériliser, pour chasser l'alcool; puis, 4° il faut réensemencer ce milieu. S'il ne marche pas, ce sera probablement par manque de bios, et en ce cas il suffirait de charger un filtrat homologue du bios nécessaire pour rendre la culture parfaite.

Rappelons que la dose de sels que nous livrons à nos cultures est au moins quatre fois la dose suffisante : voir p. 16 et 17 de notre mémoire antérieur.

C'est ce que nous avons réalisé dans les expériences ci-dessous.

Nous avons ensemencé deux milieux sucrés de 125 cc. additionnés de 2 unités de bios.

JOURS.	Expérience 14. 2 unités de bios.	Expérience 15. 2 unités de bios.
2	**1.00**	**1.40**
3	**2 60**	**2.60**
4	0.50	0.40
5	0.20	0.10

Filtrons ces cultures, additionnons du sucre en quantité voulue au filtrat, stérilisons et réensemençons : nous constaterons un grand affaiblissement de la fermentation.

JOURS.	Expérience 16. Filtrat de 14. Sucre, réensemencé, sans bios.	Expérience 17. Filtrat de 15. Sucre, réensemencé, sans bios.
6	**0.40**	**0.30**
7	**0.40**	**0.30**
8	**0.40**	0.20
9	0.30	0.20
10	0.30	0.20
11	0.20	0.10

Reprenant ces expériences 16 et 17, nous filtrons à nouveau les milieux, nous leur additionnons du sucre et respectivement environ 1 unité de bios à l'un et 2 unités à l'autre. D'autre part, nous mettons en regard, comme témoins, deux cultures *nouvelles* avec, respectivement, environ 1 et 2 unités du même bios.

JOURS.	Expérience 18. Filtrat de 16. Sucre. 1 unité de bios. réensemencé.	Expérience 19. Filtrat de 17. Sucre. 2 unités de bios. réensemencé.	Expérience 20. Milieu frais. 1 unité de bios.	Expérience 21. Milieu frais. 2 unités de bios.
2	0.10	0.20	0.10	0.10
3	0.40	**1.20**	0.40	**1.20**
4	**1.10**	**1.40**	**1.15**	**1.50**
5	**1.30**	0.60	**1.50**	1.00
6	**1.20**	0.40	**1.30**	0.50
7	0.20	0.10	0.20	0.10

La comparaison entre 18 et 20, 19 et 21, montre par les chiffres en gros caractères combien peu de différence il y a entre un milieu de culture frais et un milieu ayant fermenté une fois, pourvu qu'on réadditionne du bios. Il semble bien y avoir déjà un peu d'affaiblissement toxique, mais il ne saurait se comparer avec le manque de développement des cultures 16 et 17.

De ces expériences, nous pouvons donc conclure qu'il ne s'agissait en réalité que d'un manque de bios dans les expériences 16 et 17 et nullement d'une question de toxicité.

Si maintenant nous nous demandons quelle est la quantité de bios qui reste dans le filtrat après une marche, nous pouvons affirmer que cette quantité est excessivement faible et que la levure pour se développer ou pour fermenter l'a fait disparaître. Nous avons, dans le but de le prouver, ensemencé un milieu de 1 litre et demi de liquide minéral avec la proportion de sucre voulu ainsi que la quantité de bios, soit 12 doses (1 dose p. 125 cc.). Après achèvement de la fermentation, nous avons filtré la masse, prélevé sur le filtrat 2 cultures de 125, que nous avons ensemencées après stérilisation sans addition soit de sels, soit de bios, mais leur donnant à chacune la dose ordinaire de sucre, soit 2 morceaux. Voici leur marche.

JOURS.	Expérience 22.	Expérience 23.
	125 cc. filtrat d'une cult. ayant marché avec 1 dose de bios, 10 gr. sucre, réensemencé, sans bios.	
5	0 20	0.10
6	0.30	0.20
7	0.20	0.20
8	0.20	0.30
9	0.40	0.40
10	0.30	0.30
11	0.10	0.20

D'après cette marche, nous estimons à moins de 1/4 d'unité le bios qui reste dans ces filtrats. Nous verrons ces estimations encore confirmées par les expériences 38, 42.

La levure a-t-elle emmagasiné ce bios ou celui-ci a-t-il disparu comme tel? Tel est le problème que nous allons résoudre au chapitre suivant.

CHAPITRE II.

Richesse en bios des levures commerciales et de nos levures sur milieu minéral.

ARTICLE 1.

Localisation intracellulaire du bios des levures commerciales.

Nous nous sommes d'abord demandé si dans la levure du commerce, dont le bios s'extrait habituellement, nous devons envisager les cellules de levure elles-mêmes comme les porteuses du bios, ou si la source du bios se trouve dans le liquide qui imbibe la levure et qui forme plus de la moitié du poids de la levure sèche du commerce : ce liquide est en somme du moût ayant fermenté.

Le problème est simple et sa solution montre que le bios dans la levure de commerce se trouve presque exclusivement dans les cellules vivantes.

Pour le prouver, nous avons d'abord battu 500 grammes de levure commerciale dans de l'eau distillée, nous l'avons jetée sur le filtre et lavée à l'eau distillée durant une nuit en courant continu automatique. Nous obtenons ainsi 2,7 litres de filtrat, aux dépens duquel nous avons préparé soigneusement à l'aide du filtre CHAMBERLAND un filtrat exempt de tout corps cellulaire. Celui-ci, concentré par évaporation, sert alors de bios à des milieux ordinaires.

Pour juger de sa richesse en bios, nous en avons fait des cultures avec des quantités représentant le lavage de 2,5 gr., 10 gr. et 40 gr. de levure commerciale.

JOURS.	Expérience 24. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. eau de lavage de 2.5 gr. de levure commerciale.	Expérience 25. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. eau de lavage de 10 gr. de levure commerciale.	Expérience 26. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. eau de lavage de 40 gr. de levure commerciale.
2	0 05	0.05	0.05
3	0.00	0.25	0.00
4	0.30	0.25	0.20
5	0.30	**0.45**	0.20
6	**0.40**	**0.50**	**0.40**
7	**0.40**	**0.50**	**0.70**
8	**0.40**	0.40	**0.55**

Ce filtrat est donc très pauvre en bios : de 40 gr. de levure commerciale, on extrait par lavage à l'eau froide moins d'une 1/2 unité de bios.

Comme expérience parallèle, parce que la série précédente n'a pas de marche absolument typique, nous extrayons par l'ébullition sur 1 litre d'eau distillée le bios de la levure qui vient d'être ainsi lavée. Après concentration vers 200 cc. de cette masse liquide, nous avons ajouté à un milieu minéral sucré ordinaire des quantités de ce bios correspondant respectivement à 1/10 cc., 1/4 cc., 1/2 cc., 1 cc. et 2 cc.

JOURS.	Expérience 27. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1/10 cc. bios de levure lavée.	Expérience 28. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1/4 cc. bios de levure lavée.	Expérience 29. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1/2 cc. bios de levure lavée.	Expérience 30. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1 cc. bios de levure lavée.
2	0.20	0.10	0.70	0.50
3	0.45	**0.90**	**1 45**	**2.20**
4	0.60	**0.80**	**1.05**	**1.35**
5	0.55	**0 80**	**1 00**	**0.75**
6	0.50	0.70	0.50	0.10
7	**0.70**	0.70	0.30	0.10
8	0.60	0.60	0.30	Fini.
9	0.60	0.35	Fini.	

Comparons cette force à celle d'un bios extrait de levure commerciale non lavée, comme nous le faisons ordinairement.

JOURS.	Expérience 31. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1/10 cc. bios ord. de levure non lavée.	Expérience 32. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1/4 cc. bios ord. de levure non lavée.	Expérience 33. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1/2 cc. bios ord. de levure non lavée.	Expérience 34. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. 1 cc. bios ord. de levure non lavée.
2	0.45	0.05	0.20	0.80
3	0.35	0.45	**1.60**	**2.75**
4	0.50	**0.85**	**1.45**	**1.30**
5	0.60	**0 85**	0.75	0.35
6	**0 70**	0.55	0 30	0.30
7	0.50	....	0.05	Fini.
8	0.60	0.55	Fini.	
9	0 50	0.25		

Le résultat est évident : tandis que l'eau de lavage de levure est très faible en bios, le contenu des cellules se libérant par l'ébullition est très puissant, sensiblement aussi puissant que l'extrait de levure commerciale non lavée.

ARTICLE II.

Richesse en bios de nos levures.

Le bios des levures commerciales se trouve donc dans les corps cellulaires mêmes de la levure : comme d'autre part le bios livré à une culture en a disparu après une fermentation, on peut soupçonner la levure nouvelle d'avoir emmagasiné comme tel du bios. Pour le savoir, nous devrons évidemment traiter par l'ébullition nos levures nouvelles comme nous traitons la levure commerciale pour en extraire le bios.

Dans la levure commerciale, il faut environ 2 grammes de levure pour livrer une unité de bios. Les expériences 35, 36, 37 en font foi.

15 gr^{s} de levure commerciale sont bouillis dans 30 cc. d'eau distillée. De ces 30 gr^{s}, qui renferment donc tout le bios des 15 gr^{s} de levure, une série de cultures a été ensemencée sur milieu minéral sucré.

JOURS.	Expérience 35. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. Le bios fourni par 1/2 gr. de levure commerciale.	Expérience 36. 125 cc. sol. minér. 10 gr. sucre. Le bios fourni par 1 gr. de levure commerciale.	Expérience 37. 125 cc. sol. minér. 10 gr sucre. Le bios fourni par 2 gr. de levure commerciale.
2	....	....	0.20
3	....	0.20	0.50
4	0.20	0.50	1.10
5	0.30	0.90	1.80
6	0.40	0.70	0.60
7	0.35	0.70	0.50

Il nous reste à comparer à ces levures commerciales les levures que nous retirons de nos milieux chargés de quantités déterminées de bios.

Afin d'avoir des quantités suffisantes de levure, nous avons fait des cultures sur 6 litres de milieu minéral avec 480 gr^{s} de sucre et 48 doses de bios. Ces cultures filtrées ont donné 21,50 gr^{s} de levure pesée humide, ramenée à la consistance de la levure commerciale sèche. Nous en avons extrait le bios par ébullition et filtration.

Nous avons d'abord voulu nous assurer si effectivement le bios s'était épuisé dans ces milieux : toute la masse liquide de ces 6 litres a été ramenée à 1 litre 200 [1], sur lesquels nous avons prélevé deux cultures de 125 cc. ensemençant l'une additionnée de sucre comme telle sans bios, l'autre de sucre et de bios, à peu près une dose. Les marches de ces deux cultures (expérience 38 et 39) prouvent un affaiblissement très sensible de la fermentation et nous autorisent à rapporter cet affaiblissement à un manque de bios comme à sa cause.

JOURS.	Expérience 38. 125 cc. de filtrat concentré au 5e de 6 l. 10 gr. sucre. Sans bios.	Expérience 39. 125 cc. de filtrat concentré au 5e de 6 l. 10 gr. sucre. 1 unité envir. de bios.
4	....	0.20
5	....	1.20
6	0.20	1 00
7	0.20	0.80
8	0.30	0.50
9	0.30	0.40

Donc, nous pouvons conclure à un épuisement de bios dans le milieu liquide.

Néanmoins, nonobstant cet épuisement, la levure formée, soit donc 21,50 grs, ne livre pas une quantité de bios appréciable par la fermentation.

JOURS.	Expérience 40. 125 cc. milieu minéral. 10 gr. sucre. 1/5 du bios fourni par 21,50 gr. de nos levures.	Expérience 41. 125 cc. liq. minéral. 10 gr. sucre. 4/5 du bios fourni par 21,50 gr. de nos levures.
21	Développement : nul.	Développement : faible.
	Fermentation : nulle.	Fermentation : nulle.

[1] Nous savons par notre premier mémoire que l'on peut fournir sans inconvénients à une culture une dose de sels 5 fois plus considérable que la dose habituelle. C'est pour rester dans les limites de cette concentration minérale que nous n'avons pas poussé plus loin la concentration du filtrat.

Nous nous sommes alors demandé si dans un milieu surchargé de bios la levure formée serait encore aussi pauvre en bios, et, pour résoudre le problème, nous avons donc renforcé la dose de bios. Un milieu minéral de 1 litre avec 80 gr^{s} de sucre et additionné de 4 doses proportionnelles de bios, soit donc 32 unités pour toute la masse, a été ensemencé. La fermentation a été vigoureuse. Celle-ci achevée, nous avons filtré la culture et examiné 125 cc. du filtrat additionné de 10 gr^{s} de sucre, mais sans bios.

JOURS.	Expérience 42. 125 cc. filtrat de 1 litre de sol. minérale sucrée ayant fermenté avec 4 doses de bios. 10 gr. sucre. Sans bios.
6	0.40
7	0.30
8	0.30
9	0.40

Donc, il y a épuisement du bios dans le milieu liquide.

La levure formée, soit 10,20 gr^{s}, lavée, livre après ébullition une très faible quantité de bios.

JOURS.	Expérience 43. 125 cc. solution minérale. 10 gr. sucre. Tout le bios contenu dans 10,20 gr. de levure formée sur 1 litre de milieu sucré en présence d'une dose quadruple de bios.
7	0.10
8	0.10
9	0.10
10	0.30
11	0.40

Donc, cette levure nous livre une quantité de bios appréciable par la fermentation qu'il détermine dans un milieu de culture ensemencé. Cette quantité, cependant, reste encore très faible.

CONCLUSIONS.

Les résultats de ces expériences nous autorisent à formuler les conclusions suivantes :

1° Dans les cultures faites avec des quantités nécessaires de bios, on ne retrouve plus toute la substance *ni dans le filtrat*, où elle s'épuise rapidement et disparaît quasi complétement, *ni dans les corps cellulaires*, du moins pas sous la forme extractible.

2° Dans les cultures surchargées de bios, la charge est utilisée très largement, au point qu'on ne trouve dans la levure formée qu'une très faible quantité de bios.

La composition des cellules de levure varie donc très fort, au point de vue de leur richesse en bios, d'après le milieu sur lequel elles ont vécu. Elles peuvent emporter une riche réserve de ce produit ou n'en posséder que des traces.

Une série de questions se posent d'elles-mêmes et seraient faciles à résoudre : les cellules pauvres sont-elles capables de pulluler comme les cellules riches? Quelles sont les conditions exactes des moûts de brasserie? Est-ce que le bios est détruit comme la molécule sucrée, ou bien est-il mis en synthèse comme les composés azotés?

Reconstitution du noyau et formation des chromosomes

DANS LES CINÈSES SOMATIQUES

DE LA LARVE DE SALAMANDRE

PAR

Joseph KOWALSKI.

INSTITUT CARNOY, LOUVAIN. — LABORATOIRE DU PROFESSEUR GRÉGOIRE.

(*Mémoire déposé le* 9 *mai* 1904.)

Reconstitution du noyau et formation des chromosomes

DANS LES CINÈSES SOMATIQUES DE LA LARVE DE SALAMANDRE

INTRODUCTION.

1. *But du travail.*

Ce travail, annoncé depuis plus d'une année dans le *Botanisches Centralblatt* [1], mais que des circonstances indépendantes de notre volonté ont empêché de paraître plus tôt, a pour but de chercher à éclaircir deux points de la cinèse des cellules somatiques : comment se forme le noyau au repos à la fin de la télophase, et comment se reconstituent les chromosomes aux dépens de ce noyau au repos.

Faisant suite à celui qui a été publié ici même, en collaboration, par M. le Professeur Grégoire et M. Wygaerts, sur des cellules somatiques végétales, les cellules méristématiques du *Trillium grandiflorum*, il est tout indiqué qu'il en reproduise la marche générale. De plus, la littérature et la critique de la question ayant été faites dans l'étude de notre savant professeur, aussi bien pour la cellule animale que pour la cellule végétale, notre tâche personnelle en sera d'autant facilitée et allégée; nous nous bornerons à peu près à exposer les faits que nous avons observés et à

[1] Beihefte zum Botanischen Centralblatt, Bd XIV, Heft 1, 1903.

établir leur concordance presque complète avec ceux qui ont été décrits chez le *Trillium*.

Qu'il nous soit permis de remercier ici M. le Professeur Grégoire du bienveillant intérêt qu'il n'a cessé de nous témoigner depuis que nous avons été admis dans son laboratoire et du dévouement avec lequel il nous a dirigé dans cette recherche.

2. *Objet d'étude et méthodes.*

Nous avons choisi comme objet d'étude la larve de *Salamandra maculosa*.

Pour multiplier les cellules de division, nous nous sommes bien trouvé de la méthode indiquée par Hæcker dans son ouvrage *Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre*. Les larves capturées dans un ruisseau d'eau courante ont été soumises immédiatement à un jeûne de deux jours, puis nourries abondamment de *Tubifex* pendant quatre jours. Après ce laps de temps, la tête et la queue ont été seules fixées aux solutions de Hermann et de Flemming. Les coupes ont été colorées sur porte-objet à l'hématoxyline ferrique de Heidenhain. Ce procédé de coloration, en raison de son électivité et de sa précision spéciales, nous a donné les meilleurs résultats pour l'étude de la structure chromatique fine.

3. *Plan du travail.*

Tous les tissus ont été l'objet de notre attention et tous nous ont montré des figures de division, sauf le tissu musculaire. Nous ne pouvons songer à décrire pour chacun et avec la même abondance de détails les particularités de la télophase et de la prophase; mais, nous attachant de préférence à une catégorie, aux cellules épithéliales des branchies, nous suivrons dans ces éléments l'évolution des chromosomes pendant la télophase, leur sort dans le noyau au repos et leur réapparition à la prophase de la division suivante. Les cellules des autres tissus seront l'objet de quelques remarques complémentaires, lorsque les figures l'exigeront.

Par cette étude pour ainsi dire embryogénique du noyau au repos, celui-ci nous révèlera sa structure morphologique. Cette structure se présente, suivant les tissus, sous des aspects très variés. Nous verrons pourtant que ces aspects ne sont pas sans analogies; différant seulement du plus au moins, on peut les sérier en une suite continue, mais non les grouper sous des types distincts.

Chapitre I.

Télophase.

§ 1. Tassement polaire.

Après leur séparation à la couronne équatoriale, les anses chromatiques, en forme de V à branches généralement inégales, remontent respectivement vers les deux pôles de la cellule marqués par les centrosomes. Durant cette ascension, leur position est digne d'attention. La pointe du V est tournée vers le pôle, les branches étant dirigées obliquement par rapport à l'axe longitudinal de la cellule, ou par rapport au grand axe du fuseau. Il en résulte que bientôt les extrémités polaires des chromosomes viennent en contact, tandis que leurs bouts libres sont encore plus ou moins éloignés les uns des autres. On a donc généralement une masse concavo-convexe, où on ne distingue que difficilement les limites des chromosomes, sauf à leurs extrémités libres, qui forment saillie sur la masse. C'est la figure qui avait été signalée et décrite dès 1882 par Flemming et que M. Grégoire a désignée récemment sous le nom de « tassement polaire ».

Nous avons trouvé cette figure dans tous les tissus de la salamandre. Nous en reproduisons deux exemples, fig. **24** et **47**, l'un emprunté au tissu épithélial, où les bâtonnets chromosomiques sont demeurés comparativement plus libres, l'autre observé dans le tissu cartilagineux.

La formation d'un amas si serré est-elle due exclusivement à la convergence des chromosomes vers un même point, ou faut-il l'attribuer pour partie à leur gonflement ? Il est bien probable que cette dernière cause n'est pas étrangère au phénomène. A ce stade, en effet, il est aisé de remarquer comme une sorte de turgescence qui affecte surtout les bouts libres des bâtonnets. Ce serait le premier indice de l'entrée en jeu du liquide nucléaire, dont nous allons examiner l'influence.

§ 2. Action de l'enchylème nucléaire.

Conformément aux idées émises par M. Grégoire d'après le *Trillium*, on peut considérer le liquide nucléaire comme agissant autour et à l'intérieur des chromosomes : deux actions généralement simultanées, que nous séparerons pour rendre notre exposé plus clair.

a) *Action extrachromosomique : anastomoses.*

De l'action *extrachromosomique* résultent les anastomoses nombreuses qui relient les chromosomes entre eux. Ces anastomoses, dont nous avons des exemples très nets dans les FIG. **11**, **12**, **14**, **28**, etc., ont tous les caractères signalés dans le *Trillium* (¹) : elles sont tendues d'un bâtonnet à l'autre, épaissies à leurs extrémités et amincies dans leur milieu; elles doivent donc provenir de la même cause, c'est-à-dire de l'écartement des bâtonnets chromosomiques (de nature visqueuse, comme on l'admet généralement) primitivement accolés entre eux, puis repoussés les uns des autres par l'introduction de l'enchylème nucléaire. Ces ponts sont donc de même nature que la substance même des chromosomes : ils en ont du reste exactement les réactions chromatiques. Ils peuvent être de longueur et d'épaisseur bien différentes. Les plus longs se trouvent vers l'extérieur, mais ce sont aussi les plus minces; vers l'intérieur du noyau se trouvent les plus courts et les plus épais. Ces circonstances s'expliquent aisément si on se souvient de la position des chromosomes au tassement : le contact des bâtonnets entre eux, en effet, a été plus intime dans la partie centrale que dans la zone périphérique; les étirements, indices et restes de la coalescence toute superficielle qui en est résultée, doivent être plus épais dans celle-là que dans celle-ci.

Il faut noter que ces anastomoses, lamellaires au début, peuvent se trouver dans la suite réduites en filaments.

L'apparition de ces trabécules d'union donne en ce moment aux chromosomes cet aspect irrégulier, épineux, que bien des auteurs ont observé, mais n'ont pas expliqué de la même manière.

BOVERI, entre autres, admet que ces ponts proviennent de la fusion de deux bourgeons poussant sur les côtés de deux chromosomes voisins qui se sont rapprochés l'un de l'autre jusqu'à une certaine distance : « Es scheint demnach dass die Annäherung zweier Schleifenabschnitte die einander bis zu einem gewissen Grade nahe gerückten Segmente zur Bildung der Forsätze anregt, und dass diese nun, einander entgegenwachsend sich vereinigen. » On comprend difficilement, semble-t-il, la poussée de ces bourgeons, toujours vis-à-vis l'un de l'autre, et leur soudure en un filament rectiligne.

RABL admet, lui aussi, cette frondaison d'excroissances sur les chromo-

(¹) Pour apprécier la parfaite ressemblance des anastomoses dans le *Trillium* et dans la salamandre, comparer les fig. 3 et 4 de GRÉGOIRE avec nos figures.

somes, mais il est moins précis dans les détails et s'abstient de donner des explications : « die Fäden seitliche Fortsätze treiben und der Kern zur Ruhe übergeht ».

b) *Action intrachromosomique : alvéolisation, réseau.*

L'action que nous venons d'analyser a pour résultat final la séparation des anses primitivement en contact et la formation d'anastomoses interchromosomiques. Simultanément ou un peu après, une autre action de l'enchylème intervient que nous nommons *intrachromosomique*. Elle se manifeste par l'apparition dans l'épaisseur même du chromosome de cavités ou alvéoles dus au liquide nucléaire dont il était imbibé et qui devient libre.

Les cavités dont il s'agit sont variables de grandeur et de position. Tantôt la nucléine est rejetée également de part et d'autre : le chromosome prend alors la forme en chapelet, que l'on voit FIG. **11** et que EISMOND avait déjà signalée. Tantôt, et le plus souvent, la nucléine est repoussée inégalement par le système de vacuoles, FIG. **2**, **27**, **28**. La diversité des aspects est accrue dans certains cas par la coexistence de plusieurs vacuoles dans le sens de la largeur, FIG. **13**.

C'est cette vacuolisation interne du chromosome que REINKE a prise pour l'apparition de la division longitudinale. Et de fait, nous verrons qu'à la prophase celle-ci s'effectue par une série de cavités axiales.

A mesure que l'alvéolisation va s'accentuant, les membranules peuvent se rompre ou se résoudre en filaments. Le chromosome alors est transformé en un réseau, non pas toujours homogène, mais mixte, c'est-à-dire formé encore en partie de fragments plus volumineux, en partie de lamelles et de filaments. Ceux-ci se coupent entre eux dans toutes les directions. Aux points de croisement se remarquent des « *granulations* » prenant plus intensément le colorant. Ces granulations ne sont pas autonomes; elles ne sont que les renflements nodaux de toute trame alvéolaire-réticulée.

La transformation du chromosome en un réseau se manifeste de la façon la plus évidente lorsque, malgré l'augmentation du volume de la vacuole nucléaire, celle-ci laisse libres en dehors quelques extrémités des bâtonnets nucléiniens. Tel est le cas de la FIG. **13** prise dans le tissu cristallinien. Les deux bouts qui émergent de la masse principale et arrondie du noyau montrent nettement la particularité dont il s'agit.

Nous voici arrivé presque au stade de repos de la cellule. La fragmentation des chromosomes n'a qu'à se poursuivre dans le même sens, le rap-

prochement des réseaux partiels chromosomiques résultant de ce morcellement qu'à se compléter, pour que le noyau achève sa télophase et, prenant l'aspect de la FIG. 3, mérite le nom de noyau au repos. Nous pouvons donc faire nôtre la conclusion que M. GRÉGOIRE a tirée de l'observation des faits dans le *Trillium* : « Les chromosomes anastomosés après le tassement polaire sont devenus chacun par alvéolisation un réseau élémentaire. Le réseau nucléinien est donc un réseau de réseaux. »

Remarques.

1° Nous avons dit plus haut que l'action intrachromosomique du liquide nucléaire peut être contemporaine ou postérieure à son action extrachromosomique. Nous appuyons cette manière de voir sur plusieurs images telles que FIG. **14**, **15**. L'action extrachromosomique y est rendue manifeste par de nombreuses anastomoses, tandis que l'alvéolisation y est encore nulle.

2° La formule « le réseau nucléinien est un réseau de réseaux » exclut dans la pensée de son auteur et dans la nôtre toute participation du cytoplasme à l'organisation de la structure interne du noyau. Aucun filament protoplasmique ne pénètre dans la cavité de ce corps. Bien au contraire, lorsque l'enchylème apparaît autour du tassement polaire et à mesure qu'il s'y accumule, le protoplasme est repoussé en dehors, comme nous allons le voir en nous occupant de la formation de la membrane nucléaire. La structure dont il s'agit est l'œuvre des chromosomes seuls, — nous faisons abstraction du nucléole dont nous n'avons pas suivi le sort ; le réseau nucléinien dans sa totalité n'est que l'ensemble des réseaux partiels résultant de l'alvéolisation des chromosomes. Les anastomoses se colorent moins intensément ; c'est naturel : elles sont très minces, mais leur genèse ne nous permet point de douter de leur nature.

3° Il n'y a pas à distinguer dans le réseau chromatique deux constituants morphologiques indépendants, un substratum lininien ou plastinien et des granules chromatiques autonomes. Ces prétendus granules ne sont que des épaississements de la trame réticulaire, analogues aux nœuds qui occupent la croisée des cordes dans un filet.

§ 3. Formation de la membrane nucléaire.

GRÉGOIRE et WYGAERTS ont exposé, p. 26 de leur mémoire, comment se forme la membrane nucléaire dans le *Trillium* et, après avoir donné les raisons en faveur de leur manière de voir, ils terminent ainsi : « Nous con-

sidérons comme établi dans le *Trillium* que la membrane nucléaire se forme simplement par une condensation cytoplasmique périphérique et qu'elle n'est par conséquent, comme le dit STRASBURGER (1888), que « eine Hautschicht mit der sich das umgebende Cytoplasma gegen die Kernhöhle abgrenzt ».

C'est aussi la conclusion des faits observés par nous dans la salamandre. Ces faits répondent si bien à ceux décrits par GRÉGOIRE et WYGAERTS que l'on pourrait croire nos figures prises du même objet.

S'agit-il en premier lieu des parties de la membrane qui se forment entre les chromosomes? Le lecteur peut apprécier la concordance entre nos FIG. **2**, **12**, **14**, **15**, **25**, **26**, **27**, **28** et la fig. 3 du mémoire auquel nous nous référons. Dans la salamandre comme dans le *Trillium*, on voit que le protoplasme est repoussé par l'enchylème nucléaire sous la forme de petits arceaux rattachés de part et d'autre aux bâtonnets les plus proches et sans affinité pour les colorants nucléiniens.

Les mêmes figures permettent de comprendre comment se constituent les portions de membrane qui correspondent à l'extrémité ou au flanc externe d'un chromosome. Celui-ci dans ce cas est bordé d'une série de festons dont les parties moyennes, cintrées, sont achromatiques, tandis que les parties latérales qui s'appuient sur le chromosome prennent les colorants nucléiniens ; les premières sont cytoplasmiques, tandis que celles-ci ne sont que des parties de chromosome étirées et en gardent la nature.

L'origine cytoplasmique de ces arceaux, — ébauche de la membrane nucléaire, — qui se forment contre les chromosomes est indiquée d'ailleurs par une circonstance très importante, justement relevée par GRÉGOIRE et WYGAERTS, p. 28 : « On ne constate jamais une semblable bordure cintrée sur les flancs internes des bâtonnets, nous voulons dire sur les flancs qui regardent l'intérieur du noyau et n'ont ainsi contracté aucune adhérence avec le cytoplasme. Si ces apparences étaient dues à un refoulement de la substance chromosomique par une série marginale d'alvéoles, on devrait les observer sur tout le pourtour d'un même chromosome ». Nos figures montrent nettement l'absence de festons sur les parties des chromosomes non adjacentes à la membrane. La FIG. **15**, où la plupart des chromosomes sont coupés transversalement, est particulièrement démonstrative : les arceaux s'y montrent exclusivement aux bords externes, les bords internes ne présentant que les anastomoses dont nous avons vu plus haut l'origine.

Il est à noter que les arceaux peuvent se former, sur le parcours

externe des chromosomes, à des distances respectives plus ou moins grandes et que par suite la partie étirée du chromosome qui sépare deux cintres voisins peut être plus ou moins épaisse. Telle est l'origine des parties chromatophiles sous-jacentes, contiguës à la membrane définitive, qui alternent avec des parties plus claires, achromatophiles. Cette membrane est tout entière cytoplasmique et par suite achromatique, seulement ce caractère est, par endroits, masqué par la juxtaposition de substance nucléinienne. L'alternance de parties colorables et de parties non colorables, plus visible dans le noyau au repos, se remarque déjà dans la partie alvéolisée des chromosomes, par exemple FIG. **13**.

Rappelons en terminant que la genèse de la membrane nucléaire par refoulement du cytoplasme autour des chromosomes rend bien compte de cette observation de RABL, qu'elle apparaît tout d'abord au « Gegenpolseite » et sur les côtés. Le même auteur a reconnu que cette membrane *n'est pas chromatique, quoiqu'elle le paraisse, au moins sur tout son pourtour.*

§ 4. Peloton-fille.

Nous devons nous occuper ici de ce stade avant de parler du noyau quiescent, puisque les auteurs qui l'admettent le décrivent comme précédant le stade repos. C'est le « dispirème » de FLEMMING. Pour cet auteur et pour ceux qui le suivent, les chromosomes-filles arrivés aux pôles se fusionnent par leurs extrémités libres. Il en résulte un filament continu, pelotonné, dit peloton-fille, par opposition à celui qui se forme à la prophase et que FLEMMING a appelé peloton-mère. VAN BENEDEN, RABL et BOVERI ont attaqué la formation de cette figure dans les cinèses animales. GRÉGOIRE et WYGAERTS ont montré qu'elle n'existe certainement pas dans les cinèses du *Trillium*. Pour des raisons semblables à celles qui ont guidé ces derniers auteurs, nous devons aussi nier la formation d'un peloton-fille dans les cinèses de la salamandre.

Cela semble indiscutable dans le cas des figures où on aperçoit les extrémités libres s'alvéolisant isolément au milieu du cytoplasme qui les entoure.

Mais il en est d'autres, FIG. **2**, où l'on voit les bouts des chromosomes refoulés les uns vers les autres et venant à se toucher. JANSSENS a représenté un de ces cas (1901, fig. 79 et 80) et l'auteur y voit l'apparition du peloton-fille unique, par soudure des extrémités. Nous ne pensons pas que, de ce fait seul, la conclusion s'impose. Il est à remarquer, en effet, que cet acco-

lement des extrémités libres s'observe rarement. La terminaison libre des chromosomes est au contraire fréquente, comme on peut le remarquer sur plusieurs de nos figures. Il est donc beaucoup plus probable que ce dernier mode est le mode essentiel, le premier n'étant qu'accidentel. De plus, il est des cas où on se demande comment un tel accolement pourrait bien se faire, les extrémités des chromosomes qui devraient s'abouter étant à des distances et à des niveaux très différents.

Les images relativement fort rares qui ont fait croire à la formation du peloton-fille nous paraissent susceptibles d'une autre explication, celle qu'en a fournie Grégoire, p. 30, en note. L'accolement des extrémités des chromosomes, purement fortuit, peut résulter simplement d'un recourbement des bouts chromosomiques amené par l'arrondissement de la vacuole nucléaire.

D'ailleurs, plusieurs circonstances très significatives, que l'on peut remarquer sur la fig. 2, montrent que cet accident, quand il existe, n'a pas la signification que l'on voudrait lui attribuer. La liaison ne se fait pas entre chromosome et chromosome, mais entre les bouts d'un même chromosome : comment y aurait-il formation d'un peloton unique? D'autre part, la soudure ne porte pas sur toute l'épaisseur des chromosomes; le filament d'union est mince au milieu et s'élargit aux extrémités; il a toutes les apparences des anastomoses décrites plus haut et ne reconnaît pas une autre origine : dans le tassement, les extrémités des bâtonnets ont pu venir en contact, puis s'éloigner en continuant de rester unies par un pont de substance chromatique étirée. La fig. 2 permet de reconnaître plusieurs variations accessoires du phénomène. Certaines extrémités demeurent droites, d'autres se recourbent; à un endroit, une mince anastomose partant de l'extrémité recourbée d'un bâtonnet tombe sur le côté d'un autre bâtonnet. Ailleurs, les extrémités d'un même bâtonnet sont réunies par une anastomose, donnant ainsi l'illusion d'une soudure.

En résumé, les chromosomes s'alvéolisent indépendamment les uns des autres et il ne se forme point de peloton ou « spirème » par aboutement des extrémités libres des anses chromatiques, puis allongement, suivant l'axe du chromosome, de sa substance nucléinienne. Les chromosomes entrent donc au repos indépendants, individuels; l'individualisation est masquée, il est vrai, par la vacuolisation intérieure et les nombreuses anastomoses d'union, mais n'en existe pas moins réellement, comme le montre l'analyse attentive de la télophase.

Nous terminons ce chapitre par l'examen rapide de deux opinions récemment émises sur le passage de la télophase au stade repos.

§ 5. Critique.

Dans son travail sur la spermatogénèse du triton, M. le Professeur Janssens (1901) admet que le chromosome possède une membrane et que, durant la télophase, il y apparaît un filament intérieur enroulé en spirales tantôt droites, tantôt gauches, ou développé par places parallèlement à la direction du bâtonnet; ce filament serait la première ébauche du peloton de la cinèse suivante.

Il résulte de ce qui précède que cette interprétation ne peut pas s'appliquer à la salamandre. Les images sur lesquelles Janssens appuie son opinion, par exemple sa fig. 80, peuvent s'expliquer par une alvéolisation interne du chromosome, particulièrement irrégulière et capricieuse, qui finirait par donner l'illusion d'un filament et d'une gaîne enveloppante.

Tout récemment, Haecker (1904) vient d'adopter une manière de voir très voisine de celle de Grégoire et de la nôtre, mais différente pourtant en certains points : d'après l'auteur, le réseau se forme par alvéolisation des chromosomes; les alvéoles prennent naissance en partie suivant l'axe, en partie et surtout à la périphérie des chromosomes, dans la zone qui avoisine d'autres chromosomes, et les « anastomoses » ne sont pas autre chose que la coupe optique des parois de ces alvéoles périphériques.

Le lecteur saisira aisément la différence de cette opinion avec la nôtre, si nous nous sommes bien expliqué en décrivant les effets de la vacuolisation sur le tassement polaire. Les « anastomoses » sont le produit de l'étirement de deux chromosomes voisins venus au contact et ayant contracté adhérence, puis séparés par l'enchylème nucléaire. Cette séparation doit donner lieu à un cordon, non à une enveloppe vésiculeuse. S'il s'agissait de parois de vésicules, on ne comprend pas pourquoi la portion convexe de celles-ci se laisserait remarquer lorsqu'elles occupent le bout ou le flanc externe du chromosome, fig. Ha (Haecker, 1904, p. 223), mais ne se montrerait jamais lorsqu'elles sont sur le côté interne, en regard d'un autre chromosome. De plus à un stade ultérieur, fig. Hb (Haecker, 1904, p. 223), les anastomoses ont disparu : que seraient devenues les alvéoles périphériques? Cette question nous semble demeurer sans réponse dans l'opinion de Haecker. Pour nous, les anastomoses sont les premiers linéaments de la trame du réseau quiescent, que nous allons maintenant étudier de plus près.

Chapitre II.

Repos.

§ 1. Tissu épithélial des branchies.

La fig. 3 met sous les yeux du lecteur le noyau quiescent du tissu épithélial des branchies; c'est le terme de l'alvéolisation dont nous avons vu l'origine et les progrès. L'élément chromatique est éparpillé en un réseau de lamelles et de filaments plus ou moins épais, droits ou contournés, lisses ou irréguliers, s'entrecroisant de mille façons. Les points de rencontre sont toujours marqués par des épaississements et apparaissent comme des granulations : ce sont les analogues des nœuds de jonction des mailles dans un filet. En somme, la structure ne nous a pas semblé alvéolaire, comme celle décrite par Haecker dans « Siredon », mais plutôt filamenteuse-réticulée. Ce serait simplement un pas de plus dans l'alvéolisation qui aurait transformé les alvéoles en lamelles, puis en filaments. Nous devons enfin relever que les « Chromatinkörner » de Haecker ne sont pas plus indépendants de l'ensemble du réseau que les granulations et ne se présentent que comme des parties plus épaissies. Ce sont pour nous des restes de chromosomes que la vacuolisation n'a pas complétement alvéolisés et morcelés.

Les nucléoles qui gisent dans la cavité du noyau ne sont pas eux-mêmes indépendants. La fig. 4, dessinée sous un très fort grossissement, montre bien leurs rapports avec les mailles du réseau. C'est d'ailleurs la seule constatation que nous ayons faite sur ces corps dont nous n'avons pas suivi l'histoire.

La membrane du noyau, nous l'avons déjà fait remarquer, ne semble pas achromatique, au moins dans toute son étendue; sa genèse nous a suffisamment renseigné sur la raison de ces apparences et il n'y a pas lieu d'y insister. Intérieurement, elle donne attache au réseau nucléaire; mais nous n'avons pas vu dans notre matériel la couche si régulière d'alvéoles, la « Wabenlage » décrite par Haecker dans son dernier travail; nous ne l'avons pas rencontrée même dans les cellules de la couche cornée, qui seraient les plus favorables à cette observation. Nous n'avons pas observé davantage la pénétration à travers la membrane des filaments de protoplasme, qui, d'après Reinke (1895), se prolongeraient dans la substance fondamentale du noyau sous la forme de charpente de linine. Ce réseau de

linine, indépendant de l'élément chromatique, n'existe pas; l'étude de l'évolution du noyau ne nous en a jamais révélé le moindre indice.

§ 2. Tissu épidermique de la cornée et du cristallin.

Si nous jetons maintenant les yeux sur les cellules au repos du tissu épidermique cornéen et du tissu épidermique cristallinien, nous remarquons de suite que le réseau y est plus fin, plus délicat, à tel point que sous un faible grossissement il prend l'aspect d'une structure granulaire. Un plus fort grossissement nous montre immédiatement que ce n'est là qu'une apparence et que, comme pour le tissu épithélial des branchies, le réseau est chromatique et filamenteux dans toute son étendue. La formation de ce réseau plus régulier et plus ténu nous semble avoir été facilitée par le retard de la vacuolisation intrachromosomique, FIG. **14-15**. Celle-ci se produisant lorsque le dépôt d'enchylème extrachromosomique a bien écarté les bâtonnets, les filaments, dernier produit de l'alvéolisation des chromosomes, se répandront plus également dans tout le territoire du noyau. L'aspect de ces cellules au repos est généralement très pâle. La nucléine prend très faiblement les colorants, précisément à cause de la ténuité des éléments du réseau. Deux nucléoles gisent d'ordinaire dans la cavité nucléaire.

§ 3. Tissu épidermique.

Dans le tissu épidermique proprement dit, les phénomènes de la télophase sont les mêmes que ceux décrits pour le tissu épithélial des branchies. La vacuolisation des chromosomes est cependant moins avancée que dans ce tissu et que dans les cellules de la cornée et du cristallin, c'est-à-dire que des masses plus ou moins considérables de nucléine demeurent indivises. Ces masses ne montrent plus cependant l'aspect des chromosomes. La FIG. **30** donne une idée des images. Le réseau y est moins serré et il est à remarquer que malgré cela aucune trace de filament achromatique, indépendant du réseau chromatique, ne se montre dans les mailles. Cette constatation était plus difficile à faire sur les noyaux des tissus vus précédemment, le réseau chromatique y étant très serré; nous n'étions amené à admettre la non-existence de la linine que par les circonstances du développement du noyau; ici nous pouvons appuyer directement notre conclusion sur l'étude de la cellule au repos.

Les cellules au repos de la moelle épinière, FIG. **46**, ont même aspect que les cellules épidermiques.

§ 4. Tissu cartilagineux.

Dans le tissu cartilagineux, les chromosomes semblent s'alvéoliser moins encore que dans les tissus précédents. Nous n'y avons jamais rencontré des figures témoignant d'une vacuolisation avancée. La FIG. **48** représente une télophase. Les chromosomes ont en effet l'aspect et la situation qu'ils ont d'ordinaire à ce stade. Quelques anastomoses les réunissent, mais on n'y remarque que très peu la vacuolisation qui doit morceler le corps du chromosome. Aussi voit-on dans la cellule au repos de gros blocs de substance chromatique gisant dans l'espace nucléaire, unis par quelques filaments nucléiniens, le réseau étant ainsi à peine indiqué. La FIG. **49**, qui représente une cellule en télophase, ne montre même aucun indice de vacuolisation intrachromosomique. Les anastomoses et les arceaux reliant les extrémités des chromosomes témoignent cependant de l'action extrachromosomique de l'enchylème nucléaire.

CHAPITRE III.

Prophase.

Il nous reste maintenant à voir comment, à la prophase, le réseau chromatique s'organise en bâtonnets. Les phénomènes que nous aurons à décrire comportent des apparences tellement semblables à celles de la télophase qu'il semble parfois difficile de discerner le stade où se trouve un noyau considéré. Toutefois, les noyaux en télophase, même lorsqu'ils ne se montrent pas, dans la coupe, en regard de leur noyau-frère, se distinguent nettement des noyaux en prophase : ceux-ci, en effet, sont beaucoup plus volumineux.

§ 1. Schéma généralement admis de la prophase.

Rappelons avant tout le schéma général proposé par FLEMMING pour la reconstitution des chromosomes et admis par un grand nombre de cytologistes. Nous l'empruntons à l'ouvrage de HAECKER : *Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre* », p. 49. Les premiers changements,

lisons-nous, que présente la substance nucléaire consistent en ce que le réseau se transforme peu à peu en un filament pelotonné. Les grumeaux de chromatine épars sur le réseau de linine chevauchent dans certaines directions déterminées, s'amassent les uns contre les autres et se fusionnent. Les trabécules de linine qui ont été dépouillées de leurs granules chromatiques, après être restées quelque temps apparentes sous forme de ponts très ténus réunissant entre eux les gros filaments, disparaissent dans la suite du développement. Les filaments chromatiques, d'abord rugueux, épineux, se polissent ensuite et deviennent homogènes; ils forment alors le peloton serré. Par raccourcissement et épaississement, celui-ci passe à l'état de peloton lâche, à sinuosités beaucoup plus grandes et plus régulières. C'est pendant cette phase ou à une époque antérieure que le filament se segmente pour former les chromosomes, et que ceux-ci se divisent longitudinalement. La division serait due au clivage médian des disques nucléiniens ou granules de Pfitzner, qui par leur réunion en série formeraient le chromosome.

§ 2. Description des phénomènes.

Les faits que nous avons observés ne se laissent pas réduire à ce schéma; par contre, ils se rapprochent tellement de ceux qui ont été décrits par Grégoire et Wygaerts chez le *Trillium* que nous n'aurons à relever que des différences de modalité secondaire.

Lorsqu'on recherche dans les coupes les noyaux qui entrent en activité de division, on est tout d'abord frappé de l'aspect général qui les signale : ils paraissent plus clairs et comme moins embrouillés; le réseau y est moins serré et laisse reconnaître certaines lignes principales sinueuses, plus épaisses et partant plus colorées : ce sont les premières ébauches des chromosomes, fig. 3, 5, 6. Comment se sont-elles constituées? Nous avons vu que les chromosomes télophasiques s'étaient alvéolisés, c'est-à-dire qu'en s'introduisant en eux le liquide nucléaire les avait morcelés en membranes d'alvéoles, lamelles, filaments, le tout constituant l'unité organique que nous nommons réseau. Or, dans ce réseau, il apparaît maintenant, suivant certaines zones, des *plages de concentration* : la nucléine de tout un territoire se condense suivant certaines lignes privilégiées, donnant ainsi origine à ces cordons qui se détachent si franchement sur le reste du noyau. La concentration se poursuivant, la nucléine se tasse de plus en plus au sein des rubans chromosomiques. Par suite, le réseau de

repos disparaît peu à peu; la substance des anastomoses rentre dans le corps du chromosome dont elles étaient issues. De ce tassement proviennent les sinuosités, les bosselures, les nœuds, les épines, qui donnent en ce moment aux futurs chromosomes leur aspect irrégulier et rugueux, FIG. **6**. Les zones du noyau où se fait la première concentration pouvant d'ailleurs être plus ou moins riches de substance nucléinienne, les tassements résultants seront plus ou moins considérables.

Souvent durant cette période de coalescence et d'homogénéisation, les chromosomes se montrent percés suivant presque toute leur longueur de cavités, tantôt axiales, tantôt marginales. Il semble qu'on soit en présence d'une vacuolisation telle qu'elle nous est apparue durant la télophase. C'est en réalité un effet de la concentration : ces cavités ne sont que les restes des espaces englobés par les mailles du réseau. Elles prennent différents aspects, suivant que la nucléine est déposée sur les deux côtés également ou inégalement.

Cette série d'alvéoles gisant dans l'axe du chromosome et séparées par une paroi de nucléine donnent quelquefois au chromosome l'aspect qui a été signalé : il semble formé de disques de nucléine ou granules de PFITZNER entassés les uns sur les autres. On voit d'après leur origine comment il faut entendre ces disques ou ces granules. Ils ne sont point du tout portés par un substratum achromatique, linine de FLEMMING, mais ils ne sont que des parties plus épaisses d'une seule structure chromatique. A aucun moment, nous n'avons observé de filament chromosomique portant une série de disques.

Toutes nos figures relatives à la concentration, FIG. **5**, **6**, **7**, **8**, **9**, **18**, **19**, **20**, **30**, **31**, **34**, **36**, montrent les particularités qui viennent de nous occuper; nous les indiquerons spécialement dans la description des figures.

§ 2. Comparaisons avec le Trillium.

Jetons ici un coup d'œil comparatif sur ce stade de la concentration prophasique tel qu'il se présente dans le *Trillium* et dans la salamandre. Tout d'abord on est frappé d'un certain contraste entre les figures de GRÉGOIRE et WYGAERTS et les nôtres, entre les descriptions de ces auteurs et les nôtres.

Dans le *Trillium*, le premier début des phénomènes se présente ainsi : « La cavité nucléaire est occupée par une série de bandes alvéolaires réticulées plus ou moins parallèles et réunies entre elles par quelques

anastomoses. On ne pourrait mieux les définir qu'en disant qu'elles ne sont pas autre chose que des tranches du réseau. Le réseau s'est comme disloqué en plages parallèles, ou plutôt il s'est produit dans le réseau, suivant certaines directions, un mouvement de concentration, de rapprochement des parties, qui a amené sa dislocation en plages juxtaposées, en réseaux chromosomiques «.

Il est clair que nous ne trouvons pas dans la salamandre la régularité de phénomènes qui ressort de cette description et qui est manifeste dans les fig. 9, 10, 11 du mémoire. Pourtant certaines prophases du *Trillium* se rapprochent tout à fait de celles de la salamandre. Ce sont les noyaux semblables à ceux de la fig. 17bis de GRÉGOIRE où « on observe des portions de spirème *assez minces* réunissant des parties plus épaisses «. Si on se reporte à nos FIG. **7**, **8**, **18**, **19**, **20**, on verra sans peine qu'elles répondent précisément à ces conditions. Nous sommes donc porté à admettre, comme le fait M. GRÉGOIRE, p. 37-38, que dans notre cas les bandes primaires sont très étroites; la concentration, par suite, ne pourra produire que des chromosomes minces, ayant l'aspect de cordons, mais de cordons sinueux, noueux, comme ils se présentent en effet.

Ainsi se justifie, croyons-nous, ce que nous avons avancé plus haut au sujet de la reconstitution des chromosomes, que le phénomène se passe dans la salamandre essentiellement comme dans le *Trillium*; le mode seul est différent.

§ 3. Question de l'individualisation des chromosomes.

En parcourant nos figures des différentes phases de la concentration, le lecteur pourra remarquer que, pas plus ici qu'à la télophase, il ne semble se former de peloton continu.

L'orientation des cordons chromatiques lors de la concentration nucléinienne est nettement convergente dans beaucoup de cas, FIG. **5**, **6**, **7**, **8**, **31**, direction qui rappelle exactement celle des anses chromosomiques à la télophase. Or, nous avons maintes fois constaté la terminaison libre de ces filaments à la membrane, FIG. **5**, **6**, **7**, **9**. La FIG. **8** est aussi très instructive sur ce point. Nous n'y avons représenté que trois filaments; ils sont déjà plus accusés, nettement orientés vers un pôle. L'un d'eux a dès à présent la forme de **V**, qu'il gardera durant tous les phénomènes ultérieurs de la division, et un de ses bouts est visiblement libre. Or, il s'agit ici d'un des tout premiers stades de la reconstitution et l'interprétation obvie de cette figure est que les chromosomes sortent individuels du repos.

Il en est d'autres cependant où la formation d'un peloton lâche semblerait s'imposer. Telles les FIG. **37**, **38**, **40**, prises dans l'épiderme. Dans la première de ces figures, la coupure nette qu'on observe sur une des sinuosités du filament chromatique donnerait à croire qu'on a sous les yeux la section transversale du ruban qui doit redonner le nombre normal des chromosomes. Il n'en est rien cependant, car cette coupure, que nous n'avons pu d'ailleurs interpréter, se retrouve sur des chromosomes bien formés, FIG. **60**. M. GRÉGOIRE a représenté (op. cit., fig. 20) des chromosomes, même divisés longitudinalement, ainsi coupés transversalement par leur milieu. M. JANSSENS (1901, fig. 70 et 71) avait déjà remarqué et dessiné cette même section des chromosomes.

§ 4. Division longitudinale.

Il nous reste à traiter la question de la division longitudinale. Ce phénomène est généralement regardé comme le résultat de la scission des disques de nucléine ou granules de PFITZNER, qui par leur réunion en série constitueraient l'élément chromosomique. Nous avons vu plus haut ce qui a pu donner l'illusion de disques ou de granules. Il n'en existe réellement pas : la division longitudinale des chromosomes ne se fait donc pas par leur bipartition. Comment apparaît-elle?

A la vue des chromosomes tels qu'ils se montrent pendant la concentration, c'est-à-dire creusés de cavités, l'idée se présente naturellement qu'on se trouve en présence de la division longitudinale. La FIG. **9**, prise dans le tissu épidermique branchial et où les extrémités des chromosomes sont doubles, est particulièrement favorable à cette manière de voir.

Or, d'autre part, nous avons dit plus haut que ces cavités dont sont percés les chromosomes sont les restes des mailles du réseau au repos que la concentration n'a pas encore achevé de combler. Y a-t-il contradiction? Nous ne le pensons pas. La division longitudinale dans ce cas ne serait que hâtée; la concentration complète, l'« homogénéisation » des chromosomes, ne se ferait que pour les chromosomes-filles, pas pour le chromosome-mère : une des phases de la concentration serait sous-entendue. Ainsi s'expliquerait la division longitudinale observée à un des premiers stades de la prophase. Dans le cas contraire, c'est-à-dire lorsque la division longitudinale des chromosomes se fait tardivement et que les filaments chromatiques ont eu bien le temps de s'homogénéiser, la division apparaît sous la forme de trous situés dans le milieu du chromosome, FIG. **42**, **43**. Les parois séparant

les cavités sont quelquefois très épaisses, d'autrefois minces, de simples tractus de la nucléine. Finalement, les unes et les autres se brisent : la division longitudinale est alors achevée, mais les chromosomes gardent encore des aspérités, soit sur leur bord interne, soit sur leur bord externe. Les premières s'expliquent par le fait des anastomoses internes qui réunissaient les chromosomes-filles et qui viennent de se briser; les secondes par le fait des anastomoses externes qui joignaient entre eux les chromosomes-mères voisins, FIG. **45**, et GRÉGOIRE, fig. 19. Petit à petit, ces irrégularités s'effacent et les chromosomes-filles devenus homogènes, FIG. **41**, **44**, vont entrer dans la métaphase.

Nous conclurons donc sur ce sujet comme M. GRÉGOIRE : „ La division longitudinale", dans la salamandre, "n'est pas essentiellement la bipartition d'une série de corpuscules autonomes fixés sur le bâtonnet; elle consiste simplement dans le partage en deux d'un ruban chromatique, formé lui-même par la concentration d'un réseau chromosomique".

CHAPITRE IV.

Appendice.

§ 1. Structure des chromosomes.

Nous avons dit que les chromosomes devenaient homogènes : en effet, nous ne croyons pas les chromosomes essentiellement alvéolaires, comme le prétend HAECKER. Ils le deviennent à la télophase. A la prophase, lorsqu'ils se préparent à la division longitudinale, ils ne le sont pas.

En effet, à la métaphase les chromosomes sont colorés intensément et également dans toute leur étendue : pas l'ombre d'une cavité. De plus, si leur structure était essentiellement alvéolaire, et si elle n'avait été que voilée par l'excès de la concentration à la prophase, lorsque celle-ci a cessé et que toutes les circonstances favorisent la réapparition de cette structure, celle-ci devrait se montrer. Or, dans les FIG. **14**, **15**, on voit nettement les chromosomes garder leur structure homogène, alors que le liquide nucléaire les baigne de toutes parts. Il faut que ce liquide fasse pour ainsi dire effort pour détruire la cohésion des différentes parties des chromosomes : ce qui démontre bien l'homogénéité de ces éléments.

§ 2. Prophase dans les autres tissus.

a) *Dans le tissu cristallinien et cornéen.*

Les tissus cristallinien et cornéen se rapprochent beaucoup du tissu épithélial des branchies, que nous avons choisi pour type dans la description des phénomènes. Les FIG. **18**, **19**, **20**, **21**, montrent la sériation complète des différents aspects que prend le filament chromatique depuis sa sortie du repos jusqu'à son élaboration en chromosome presque achevé. Dans l'une de ces figures, un nucléole semble participer par sa désintégration à la formation des filaments chromatiques.

b) *Dans le tissu épidermique.*

Le tissu épidermique donne lieu à quelques remarques. Nous avons vu que dans le noyau au repos des masses plus ou moins considérables de nucléine persistent indivises. Aussi la prophase présente-t-elle un autre aspect que celui des cellules branchiales. Les FIG. **30**, **31**, **32**, relatives aux éléments dont il s'agit, montrent que de véritables bandes alvéolaires réticulées s'y dessinent, telles que M. GRÉGOIRE en a vues dans le *Trillium*. Elles proviennent de la concentration du réseau autour des masses de nucléine demeurées compactes. Ces masses serviraient de base pour la première coalescence de la nucléine. Dans cette façon de voir, on aurait là pour l'hypothèse de l'individualisation des chromosomes un argument de plus, puisque ces masses de nucléine, qui sont des restes des chromosomes plus ou moins morcelés de la division précédente, redeviennent chromosomes dans la nouvelle division, lorsque la concentration leur a rendu la nucléine que la vacuolisation leur avait enlevée lors de l'organisation du réseau.

c) *Dans le tissu cartilagineux.*

Dans le tissu cartilagineux, nous n'avons jamais vu les premiers stades de la sortie du repos tels que nous les avons décrits dans le tissu épithélial des branchies, c'est-à-dire des filaments chromatiques grossissant par l'apport de la nucléine environnante et s'homogénéisant. Nous pensons que les masses chromatiques qui demeurent des anciens chromosomes et remplissent pendant le repos la cavité nucléaire redonnent immédiatement les chromosomes presque homogènes. Le réseau, en effet, dans ces cellules est

constitué par les anastomoses extrachromosomiques réunissant les chromosomes peu ou point transformés de l'ancienne division. Les anastomoses n'ont donc qu'à se rompre pour que les chromosomes soient presque constitués pour la nouvelle cinèse. En définitive, par suite de cette incomplète dislocation des chromosomes à la télophase, la reconstitution des bâtonnets nucléiniens est plus hâtée, la concentration est plus vite achevée, FIG. **49**.

CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ.

I. Télophase.

1. En arrivant au pôle, les chromosomes-filles forment la figure que GRÉGOIRE a appelée le *tassement polaire*.

2. L'*enchylème* nucléaire survient et *sépare les chromosomes* tassés; de l'adhérence contractée dans le tassement et de la *séparation subséquente proviennent les anastomoses* qui relient les chromosomes voisins ou les deux branches d'un même chromosome.

3. En même temps, l'enchylème *alvéolise* très irrégulièrement *les chromosomes*, au point de transformer chacun d'eux en un réseau.

4. L'ensemble de ces *réseaux partiels et des anastomoses forme le réseau total* nucléaire.

5. Celui-ci est donc un «*réseau de réseaux*» (GRÉGOIRE). Il est *totalement chromatique* ou du moins il n'est pas constitué d'un substratum achromatique, portant des corpuscules chromatiques autonomes. Les «*granulations*» sont simplement des épaississements aux points de rencontre des mailles du réseau chromatique.

6. La membrane nucléaire résulte du refoulement du protoplasme, sous l'action de l'enchylème nucléaire.

7. La membrane, en se formant, n'enferme pas une portion du cytoplasme, qui, à l'intérieur du noyau, constituerait le caryoplasme.

8. *Il ne se forme pas de peloton-fille*. Les chromosomes entrent individuels dans le repos.

9. L'action de l'enchylème nucléaire pouvant varier dans le temps de son apparition, dans sa durée, dans son intensité et aussi suivant l'état physiologique de la cellule, il en résulte que la vacuolisation intrachromosomique peut conduire plus ou moins loin l'alvéolisation des chromosomes; de là l'aspect si varié des noyaux des cellules au repos.

II. Prophase.

1. Lorsque la cellule entre en division, une *concentration* de l'élément chromatique se produit suivant certaines zones du territoire nucléaire. Il en résulte des rubans chromatiques irréguliers, sinueux, percés de cavités.

2. La concentration en s'accentuant détermine la rupture de toutes les anastomoses, l'oblitération des cavités, en un mot *l'homogénéisation* des rubans chromosomiques et la formation des chromosomes.

3. Il est probable *qu'il ne se forme pas de peloton-mère* et que les chromosomes sortent individuels du repos.

4. La division longitudinale semble pouvoir résulter soit d'une incomplète homogénéisation lors des premiers stades de la télophase, les deux moitiés longitudinales s'homogénéisant chacune pour son compte; soit de la nouvelle formation d'une série de cavités creusées suivant l'axe du chromosome et de la rupture des cloisons de séparation de ces cavités. *Dans aucun cas, elle n'est le résultat d'une bipartition d'une série de disques ou de granules de* Pfitzner.

Telles sont les conclusions dans lesquelles nous résumons notre travail. Pour en mieux affirmer la concordance avec celles de M. Grégoire dans son étude des cinèses somatiques du *Trillium*, nous transcrivons ici, en l'appliquant mot pour mot à notre objet, le remarquable passage qui termine son mémoire. Le noyau dans la larve de salamandre, abstraction faite des nucléoles, est « une vacuole limitée par une couche membraneuse « cytoplasmique, remplie d'un enchylème dans lequel plonge un réseau chro- « matique alvéolaire-réticulé, formé d'une trame homogène, sans distinction « morphologique entre un substratum achromatique et des granulations « chromatiques; ce réseau, qui prend naissance par la juxtaposition de « réseaux élémentaires chromosomiques, garde vraisemblablement durant « tout le repos ce caractère composite et il faut probablement le définir « comme une association de chromosomes alvéolisés et réticulisés » (plus ou moins alvéolisés suivant les espèces de cellules, ainsi que nous avons eu à le remarquer).

LISTE BIBLIOGRAPHIQUE.

1888 *Boveri* : Zellenstudien; Naturwissenschaft, B^d 22.

1884 *Carnoy, J. B.* : La Biologie cellulaire, Lierre.

1898 *Eismond* : Sur la structure des chromosomes; Bibliogr. anatom , fasc. 5.

1882 *Flemming, W.* : Zellsubstanz, Kern- und Zelltheilung. Leipzig.

1903 *Grégoire, V., et Wygaerts, A* : La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques de *Trillium grandiflorum*; La Cellule, t. XXI.

1903 » : Botanisches Centralblatt, B^d XIV.

1899 *Häcker, V.* : Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. Iena.

1904 » : Bastardirung und Geschlechtzellenbildung; Abdruck aus den Zoolog. Jahrbücher, Supplement VII.

1901 *Janssens, F. A.* : La spermatogénèse chez les tritons; La Cellule, vol. XIX.

1882 *Pfitzner, W.* : Ueber den feineren Bau der bei der Zelltheilung auftretenden fadenförmigen Differenzierungen des Zellkerns; Morph. Jahrb., B^d VII.

1885 *Rabl, C.* : Ueber Zellteilung; Morpholog. Jahrb., B^d 10.

1889 » : Ueber Zellteilung; Anatom. Anzeiger, B^d 4.

1895 *Reinke* : Zellstudien. II; Arch. für mikroskop. Anatomie, B^d 44.

1888 *Strasburger* : Ueber Kern- und Zelltheilung im Pflanzenreiche, nebst einem Anhang über Befruchtung; Hist. Beitr., I, Iena.

1887 *Van Beneden, Ed., et Neyt, Ad.* : Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'*Ascaris megalocephala*; Extrait de la communication préliminaire faite dans le Bulletin de l'Acad. Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique, IIIe série, t. XIV.

1899 *Van Wisselingh, C* : Ueber das Kerngerüst; Botan. Zeitung, Heft IX.

1900 *Wilson* : The cell in development and inheritance. London.

EXPLICATION DES FIGURES.

Toutes les figures ont été dessinées par nous à la chambre claire, à la hauteur de la platine du microscope, à l'aide de l'objectif semi-apochromatique 1/15 *(grossissement :* 150*) de* KORITZKA *et de ses oculaires compensateurs. Elles ont été reproduites grandeur naturelle en similigravure dans les établissements justement réputés de* JEAN MALVAUX, *à Bruxelles.*

I. Branchies.

FIG. **1**. Anaphase. — Les chromosomes ont la forme de **U** ou de **V** à branches inégales. Extrémités un peu renflées. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **2**. Télophase. — Vacuolisation des chromosomes. Ceux-ci sont percés de cavités très irrégulières, tantôt axiales, tantôt marginales. Plusieurs ont leurs extrémités droites, mais certains les ont recourbées; l'un d'eux les montre nettement réunies par une anastomose, au point de paraître soudées. La membrane nucléaire apparaît à certains endroits entre les extrémités libres et sur le pourtour externe des chromosomes, sous forme d'arceaux. Lorsque le chromosome a eu son extrémité recourbée de telle sorte qu'il est contigu sur une certaine longueur avec le protoplasme environnant, les arceaux apparaissent sur toute cette longueur, mais seulement sur cette longueur, preuve que leur convexité est bien formée par le cytoplasme condensé. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **3**. Noyau au repos. — Le réseau est assez fin, entièrement chromatique, mais variable d'épaisseur. Plusieurs filaments doubles avec cavités témoignent d'un reste de chromosome non totalement transformé en réseau. Les deux nucléoles semblent n'être qu'un conglomérat plus considérable de nucléine et faire partie eux aussi du réseau. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **4**. Fragment plus grossi du noyau précédent, pour montrer la structure du réseau — Les granulations et épaississements apparaissent nettement, non comme une structure autonome et indépendante supportée par un substratum achromatique, mais bien comme des nœuds et des renflements d'un même réseau chromatique. — Grossissement : 150 × 18.

FIG. **5**. Prophase. Sortie du repos. — Le réseau se disloque, devient plus lâche par suite de la concentration qui fait apparaître dans certaines zones de la

cavité nucléaire des filaments chromatiques sinueux et irréguliers; la direction de ces filaments est dans l'ensemble convergente vers le centre du noyau. La membrane, encore bien visible, est plus nettement achromatique que dans la figure précédente, ce qui tient à ce que la concentration a rappelé vers l'intérieur du noyau les masses de substance chromatique qui, sous la pression du liquide nucléaire, s'appliquaient contre le cytoplasme. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **6**. Prophase. Sortie du repos; stade plus avancé. — Réseau plus lâche encore que dans la figure précédente. Direction des filaments chromosomiques toujours rayonnante. Membrane encore visible, bien achromatique. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **7**. Prophase; état plus avancé. — Les filaments chromatiques sont très sinueux, irréguliers de contour et d'épaisseur par suite du retrait de la plus grande partie des mailles du réseau. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **8**. Prophase. — Fragment d'un noyau. La concentration s'est accentuée; les filaments chromosomiques sont même délimités; l'un d'eux a déjà sa forme caractéristique de **V**, mais est toujours bosselé, noueux, creusé. Les extrémités sont libres. Quelques anastomoses persistent entre bâtonnets voisins. Direction rayonnante. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **9**. Prophase. — Les chromosomes sont déjà moins sinueux, plus épais, mais non homogènes encore. De nombreuses cavités axiales donnent à croire à une division longitudinale avec apparence trompeuse de disques de Pfitzner. Au milieu de la figure, un filament chromatique coupé transversalement comme dans la fig. **37**. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **10**. Chromosomes homogènes; l'un d'eux présente une coupure transversale nette de la nucléine, mais de part et d'autre deux minces tractus réunissent encore deux parties du chromosome. — Grossissement : 90 × 8.

II. Tissu cristallinien et tissu cornéen.

FIG. **11**. Télophase (cristallin). — Les chromosomes sont bien vacuolisés. L'un d'eux est réduit à une série de cavités régulières. Nombreuses anastomoses. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **12**. Télophase (cornée) vue du pôle un peu obliquement. — Nombreuses anastomoses entre les chromosomes. Formation de la membrane nucléaire par le refoulement du protoplasme environnant, sous forme d'arceaux allant d'une extrémité d'un chromosome aux chromosomes voisins. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **13**. Télophase (cristallin). Vacuolisation avancée dans l'ensemble du noyau et principalement aux deux bouts de chromosomes qui font saillie dans le protoplasme environnant. Le réseau apparait nettement comme formé de parties plus épaisses réunies par des tractus plus minces. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **14**. Télophase (cristallin). — Nombreuses anastomoses soit entre chromosome et chromosome, soit entre branches d'un même chromosome; leur étirement est rendu visible par la formation des petits cônes basilaires La vacuolisation intrachromosomique cst à peine commencée. — Grossissement : 150 × 6.

FIG. **15**. Télophase (cristallin), vue du pôle, obliquement. — Nombreuses anastomoses donnant aux chromosomes sectionnés transversalement la forme d'étoiles. Formation de la membrane. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **16**. Cellule au repos du cristallin. — Grossissement : 150 × 6.

FIG. **17**. Cellule au repos de la cornée. — Grossissement : 150 × 8.

N. B. Les deux figures précédentes laissent à désirer et ne rendent que médiocrement l'aspect du noyau au repos de ces cellules. Les filaments doivent être imaginés beaucoup plus fins et formant dans leur ensemble un réseau très délicat à mailles excessivement petites.

FIG. **18**. Prophase (cristallin). — Apparition des filaments chromosomiques. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **19**. Prophase (cornée). — Formation des chromosomes. Le réseau existe encore, mais plus lâche, par suite de la disparition de quelques anastomoses, qui par leur retrait ont contribué à l'épaississement des premiers filaments chromosomiques. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **20**. Prophase (cristallin). — Formation des chromosomes. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **21**. Prophase (cristallin). — Stade plus avancé de l'homogénéisation des chromosomes. Les anastomoses apparaissent moins nombreuses que dans la figure précédente; par suite, les chromosomes sont plus épais et mieux définis. — Grossissement : 150 × 12.

III. Tissu épidermique.

FIG. **22**. Anaphase. — Les chromosomes, en forme de **V** à branches inégales, convergent vers l'un des pôles de la cellule. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **23**. Télophase. — Couronne polaire vue du pôle; les chromosomes sont encore distincts. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **24**. Télophase. — Tassement polaire. Commencement de la vacuolisation. — Grossissement : 150 × 6.

FIG. **25**. Télophase. — Les chromosomes se sont écartés sous l'action du liquide nucléaire qui les baigne. Quelques anastomoses en sont résultées. Formation de la membrane nucléaire par refoulement du protoplasme sous forme de petits arceaux, entre les extrémités des chromosomes, visibles sur toute la périphérie du noyau. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **26**. Télophase. — Vacuolisation intra- et extrachromosomique plus avancée. Anastomoses de différentes épaisseurs. Formation de la membrane nucléaire. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **27**. Télophase. — Vacuolisation. Anastomoses. Formation de la membrane. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **28**. Télophase. — Vacuolisation assez avancée. Anastomoses. Formation de la membrane. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **29**. Télophase. — Vacuolisation avancée. Plusieurs chromosomes dont la nucléine a été repoussée de manière à former une suite de cavités suivant leur longueur. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **30**. Cellule épidermique au repos. — De grosses masses de chromatine demeurent indivises. Réseau chromatique avec points d'épaississements, granulations, aux points de rencontre des filaments — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **31**. Prophase. — Formation de bandes chromosomiques convergentes. Nombreuses cavités dans ces bandes. Nombreux filaments anastomotiques du repos. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **32**. Prophase. — Formation des bandes chromosomiques. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **33**. Prophase. — Chromosomes mieux formés, mais non encore homogènes. Les anastomoses n'ont pas encore toutes disparu. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **34**. Prophase. — Chromosomes s'homogénéisant. — Grossissement : 150 × 6.

FIG. **35**. Prophase. — Homogénéisation des chromosomes. Autre aspect rappelant celui de la FIG. **9**. Peut-être commencement de division longitudinale. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **36**. Prophase. — Stade plus avancé de l'homogénéisation. Un chromosome est percé sur toute sa longueur d'une série de cavités, donnant l'aspect d'une série de disques séparés par des espaces plus clairs. — Grossissement : 150 × 6.

FIG **37**. Prophase. — Chromosomes presque formés et semblant former un peloton lâche. A remarquer la coupure transversale bien nette du filament chromatique. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **38**. Prophase. — Chromosomes en voie de formation. Autre aspect. De nombreuses anastomoses persistent encore. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **39**. Prophase. — Chromosomes presque homogènes, mais reliés encore entre eux par des anastomoses. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **40**. Prophase. — Chromosomes homogènes. Quelques bouts sont libres. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **41**. Prophase. — Chromosomes formés. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **42**. Prophase. — Division longitudinale en train de se faire. Les parois transversales des cavités alignées suivant l'axe du chromosome ne sont pas encore rompues, sauf à quelques-unes des extrémités des chromosomes. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **43**. Prophase. — Division longitudinale mieux marquée. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **44**. Prophase. — Division longitudinale presque achevée. Quelques minces anastomoses persistent entre les moitiés longitudinales de deux chromosomes. Ceux-ci sont épineux et sur leur bord interne et sur leur bord externe; ces petites saillies sont les restes basilaires des anastomoses rompues; une anastomose persiste encore d'un chromosome à l'autre. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **45**. Prophase. — Division longitudinale achevée et chromosomes homogènes. — Grossissement : 150 × 12.

FIG. **46**. Cellule au repos de la moelle épinière. — Grossissement : 150 × 12.

IV. Tissu cartilagineux.

FIG. **47**. Télophase. — Tassement polaire. — Grossissement : 150 × 6.

FIG. **48**. Télophase. — Vacuolisation. Les chromosomes sont à peine vacuolisés et gardent leur forme. Le stade repos qui suit est presque semblable. — Grossissement : 150 × 8.

FIG. **49**. Télophase. — Vacuolisation intrachromosomique nulle. — Grossissement : 150 × 6.

FIG. **50**. Prophase. — Chromosomes presque formés. — Grossissement : 150 × 6.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction 349
1. But du travail 349
2. Objet d'études. Méthodes 350
3. Plan du travail 350

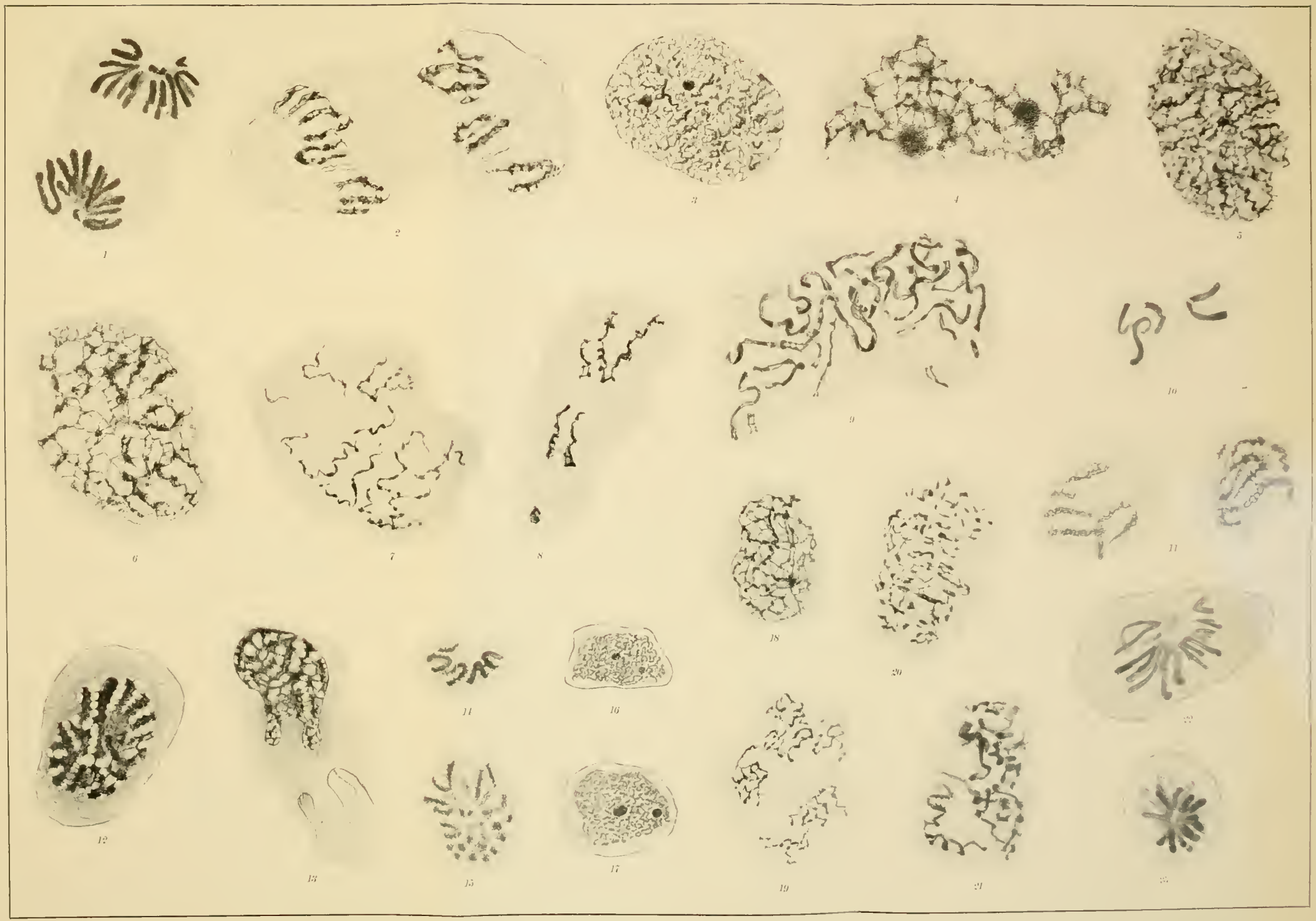
Chapitre I. *Télophase* 351
§ 1. Tassement polaire 351
§ 2. Action de l'enchylème nucléaire 351
a) Action extrachromosomique : anastomoses 352
b) Action intrachromosomique : alvéolisation, réseau 353
Remarques 354
§ 3. Formation de la membrane nucléaire 354
§ 4. Peloton-fille 356
§ 5. Critique 358

Chapitre II. *Noyau au repos* 359
§ 1. Tissu épithélial des branchies 359
§ 2. Tissu de la cornée et du cristallin. 360
§ 3. Tissu épidermique 360
§ 4. Tissu cartilagineux 361

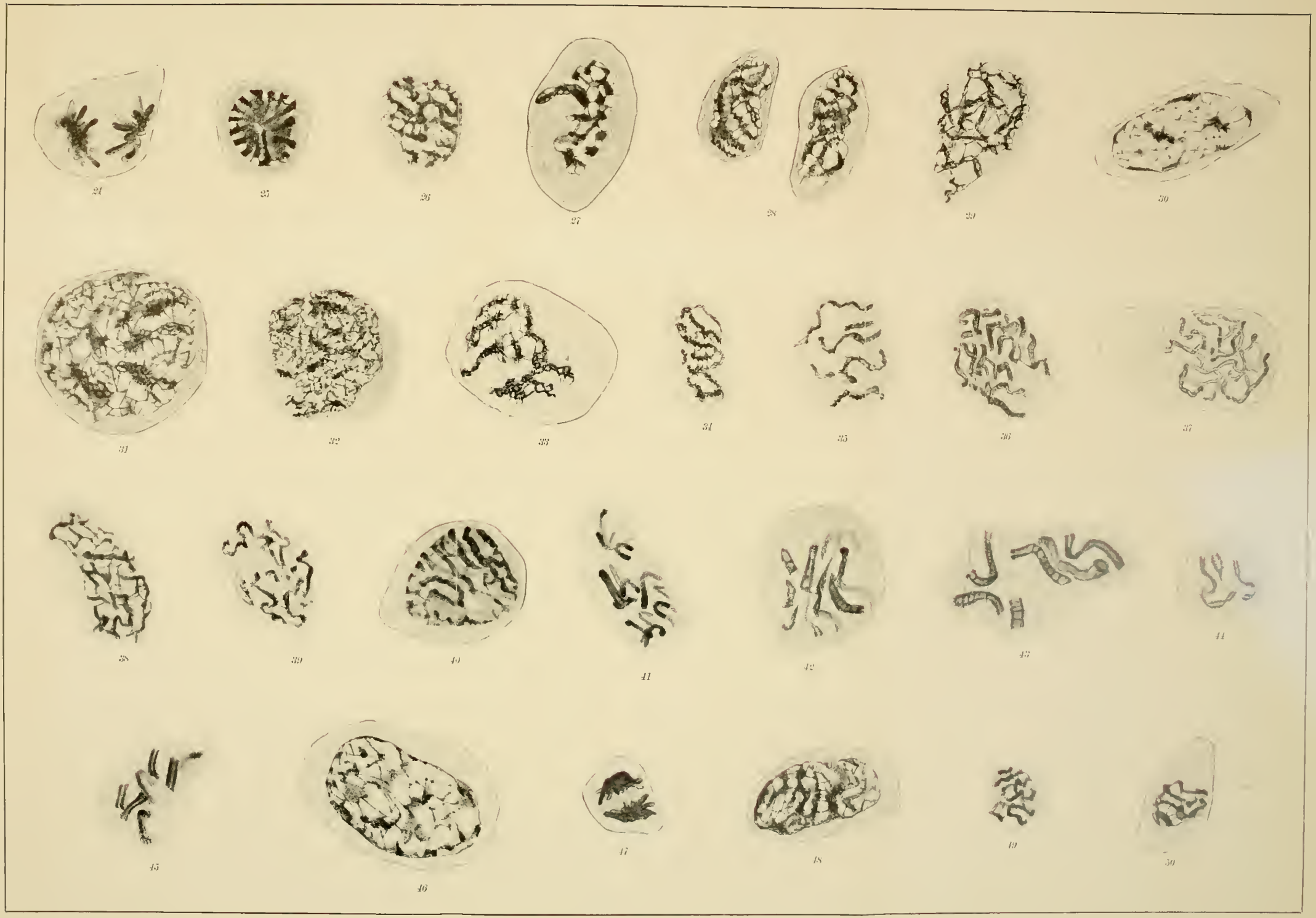
Chapitre III. *Prophase* 361
§ 1. Schéma généralement admis de la prophase 361
§ 2. Description des phénomènes. 362
§ 3. Comparaison avec le *Trillium* 363
§ 4. Question de l'individualisation des chromosomes 364
§ 5. Division longitudinale. 365

Chapitre IV. *Appendice* 366
§ 1. Structure des chromosomes 366
§ 2. Prophase dans les autres tissus 367
a) Dans le tissu cristallinien et cornéen 367
b) Dans le tissu épidermique 367
c) Dans le tissu cartilagineux 367

Conclusions et résumé 368
Liste bibliographique 371
Explication des figures 373



J. KOWALSKI, ad. nat. del.



J. KOWALSKI ad. nat. del

LA

Formation des Chromosomes hétérotypiques

DANS LA SPOROGÉNÈSE VÉGÉTALE

II. Depuis la Sporogonie jusqu'au Spirème définitif,

dans la Microsporogénèse de l'*Allium fistulosum*,

PAR

Jules BERGHS,

DOCTEUR EN SCIENCES, ASSISTANT DE BOTANIQUE.

INSTITUT CARNOY, LOUVAIN. — LABORATOIRE DU PROF. GRÉGOIRE.

(*Mémoire déposé le* 20 *juin* 1904.)

La Formation des Chromosomes hétérotypiques

DANS LA SPOROGÉNÈSE VÉGÉTALE.

Dans un premier mémoire, nous avons étudié la formation des chromosomes définitifs aux dépens du *spirème épais*. — Nous avons montré que, dans le *Lilium speciosum* et l'*Allium fistulosum*, contrairement à l'opinion de Dixon (95 et 01) et de Farmer et Moore (03), les deux chromosomes filles qui constituent chaque chromosome définitif représentent deux « moitiés longitudinales » d'un tronçon spirématique épais.

Mais nous avions fait alors des réserves sur la question de savoir quelle signification il faut attacher à la *division longitudinale* du spirème. Cette division longitudinale est-elle une vraie bipartition, telle que la division longitudinale des chromosomes somatiques, ou bien est-elle simplement la réapparition de deux filaments primitivement accolés? C'est la question que nous avons laissée sans réponse et à laquelle nous voulons répondre maintenant, en étudiant les phénomènes qui aboutissent à former le peloton aux dépens du réseau nucléaire du repos. Nous allons donc rechercher comment se forme, *dans son épaisseur*, le *spirème définitif*.

Nous avons entrepris ces recherches sur de nombreux objets. Malheureusement, on ne peut que difficilement se procurer un matériel complet montrant tous les stades successifs. Nous n'exposons ici que nos observations sur l'*Allium fistulosum*, où notre sériation ne présente aucune lacune.

I. Littérature.

De tous les auteurs botanistes qui ont étudié ce stade, aucun n'établit de distinction entre les cinèses somatiques et les cinèses maturatives au point de vue de la formation du spirème *dans son épaisseur*. Tous admettent simplement « *qu'aux dépens du réseau nucléaire se forme un filament spirématique* ». Cela est vrai non seulement de ceux qui rejettent toute division réductionnelle, mais même de ceux qui admettent une semblable division. Ces derniers, en effet, expliquent la réduction par la séparation de deux tronçons *transversaux* du spirème.

Cependant, la prophase hétérotypique diffère de la prophase somatique en ce que la première est *marquée par le stade de contraction synaptique*. Mais d'abord, beaucoup d'auteurs considèrent ces apparences synaptiques comme artificielles et ne s'y arrêtent pas. D'autre part, Miss SARGANT, qui a étudié de plus près le synapsis (96 et 97) et qui en a démontré la naturalité, y voit simplement le spirème s'épaissir par apport de substances nouvelles. D'autres auteurs, enfin, admettent bien que le synapsis est en rapport avec la formation des bâtonnets, mais simplement en ce sens que c'est au synapsis que deux bâtonnets somatiques se joindraient *bout à bout* (FARMER et MOORE, 03) (1).

Parmi les auteurs zoologistes, beaucoup signalent le synapsis et l'étudient. Mais c'est surtout avec les recherches de VON WINIWARTER (00) que nos observations présentent de grandes analogies. Nous ne nous arrêterons qu'à celles-là.

Cet auteur a étudié le synapsis dans l'ovogénèse du lapin et de l'homme. D'après sa description, le réseau nucléaire de l'ovocyte I se transforme d'abord en filaments moniliformes (2) et très allongés (noyau leptotène). Ces filaments se contractent en un grumeau compact dans un côté de la cavité nucléaire (noyau synaptène). Durant cette contraction, l'auteur observe que

(1) Nous ne parlons pas ici des dernières recherches de STRASBURGER (04). L'auteur vient de modifier ses vues concernant les cinèses maturatives, et étudie aussi le stade de contraction synaptique qu'il met en rapport avec la réduction. Nous publions cette note telle que nous l'avons déposée, il y a six mois, pour un concours gouvernemental. D'ailleurs, nous aurons bien vite l'occasion de comparer nos recherches avec celles de STRASBURGER; nous comptons exposer, plus tard, la vérification dans d'autres objets de l'interprétation donnée ici pour l'*Allium*.

(2) L'auteur ne tranche pas la question de savoir si le filament est unique ou multiple.

des tronçons filamenteux courent parallèlement l'un à l'autre, deux par deux. Il explique ces dualités, en admettant qu'elles aboutissent à accoler l'un à l'autre deux tronçons du spirème mince. De cet accolement résulte un spirème épais, qui se déroule dans la cavité du noyau (noyau pachytène). Ensuite, ce spirème se clive longitudinalement, mais cette division longitudinale n'est que la réapparition de la fente d'union du stade précédent. On verra que c'est de cette description de von Winiwarter que la nôtre se rapproche le plus.

Janssens et Dumez (03) montrent quelques figures, phot. 40, 41, 42, appartenant au stade du « bouquet » imparfait, dans lesquelles apparaissent certaines dualités. Elles sont préalables à la division longitudinale et n'en sont donc pas le résultat, et pourraient s'expliquer par un accolement. Néanmoins, ces auteurs les considèrent comme sans signification spéciale.

Le point que nous allons étudier ici est donc le suivant : par quelle suite de phénomènes, le spirème définitif, — c'est-à-dire le spirème lâche et épais, — se forme-t-il aux dépens du réseau chromatique qui se reconstitue après la dernière cinèse sporogoniale.

II. Observations personnelles.

A. Structure du noyau quiescent.

Notre fig. 1 montre la reconstitution du noyau après la dernière cinèse sporogoniale. On voit que les phénomènes sont identiques à ceux qu'ont décrits récemment Grégoire et Wygaerts (03) pour la télophase des cinèses somatiques. Chaque chromosome, par suite d'une vacuolisation progressive, est transformé en une sorte de réseau chromatique élémentaire, et c'est de la juxtaposition des divers « réseaux chromosomiques » que résulte le réseau chromatique général. La structure du noyau, au début, est alvéolaire-réticulée; mais bientôt, sous l'influence de la vacuolisation de plus en plus accentuée des bandes chromosomiques, les membranules alvéolaires se transforment toutes en des formations filamenteuses et tout l'élément nucléaire possède alors une disposition réticulée : il est constitué de filaments anastomosés, fig. 2. C'est cette organisation que Sargant (96 et 97) caractérise par cette expression : « network of threads ».

Ces filaments représentent donc ce que nous pourrions appeler les

dérivés des chromosomes sporogoniaux, dérivés non pas par suite d'une simple élongation de ceux-ci, mais par suite de leur alvéolisation de plus en plus accentuée.

B. Début des phénomènes cinétiques.

Le début de l'évolution prophasique de l'élément nucléinien consiste dans la transformation du réseau que nous venons de décrire en une structure nettement filamenteuse.

En effet, à mesure que le noyau augmente son volume, FIG. **3** et **4**, les anastomoses s'effacent graduellement, et les filaments chromatiques se dégagent de plus en plus. Ils ne sont pas droits, mais se montrent fréquemment recourbés sur eux-mêmes, de contour sinueux, courant en zigzag à travers la cavité nucléaire. De plus, ils ne présentent pas une épaisseur uniforme sur toute leur longueur. Ils se montrent irrégulièrement épaissis, renflés aux points de courbure. Cette constitution est un résultat évident de l'origine de ces filaments.

Ces filaments, en général très minces, sont énormément longs et remplissent toute la cavité du noyau. D'après SARGANT, ces cordons seraient formés d'une bande lininienne mince supportant une rangée de granules. Nous n'avons jamais observé semblable constitution, quelle que fut la coloration employée : nous avons toujours observé des cordons complétement chromatiques, mais montrant en certains endroits des parties saillantes.

Pendant que le noyau s'accroît, les filaments s'épaississent légèrement, FIG. **3** et **4**. Cet épaississement est-il dû uniquement à la condensation de la chromatine des filaments eux-mêmes, ou est-il dû à un apport de substance venue d'ailleurs, soit du nucléole, soit de l'« amorphous chromatine », comme le dit SARGANT, ou de la substance sidérophile diffuse dans le noyau, comme le pense JANSSENS (01)? Nous ne le savons pas. Nos recherches n'ont pas porté sur ce point. Étant donné le but que nous poursuivons dans ces recherches, nous pouvons nous en abstenir sans nous exposer à aboutir à des conclusions fausses : en effet, la structure ne serait pas modifiée par ces apports, elle ne serait que renforcée, sans changer de nature.

La description que nous donnons du noyau sporocytaire, au début des phénomènes maturatifs, correspond donc assez bien à celle des « noyaux leptotènes » de VON WINIWARTER. — Le peloton est-il unique ou

multiple? A première vue, il est difficile de trancher. von Winiwarter n'ose pas se prononcer. Cependant, nous devons faire remarquer qu'à toute profondeur du noyau, à des niveaux où le rasoir n'a pas entamé la structure, nous observons des extrémités libres. D'autre part, Grégoire et Wygaerts (03) ont encore démontré récemment qu'il n'y a, dans les cinèses somatiques, ni peloton-mère ni peloton-fille. Nous admettons donc que le noyau sporocytaire contient dès ce stade des filaments chromosomiques indépendants. Il nous serait évidemment impossible de dire s'il y en a 16, nombre normal des chromosomes de l'*Allium*, — ou 8, nombre réduit.

Avant de continuer la description de nos observations, il ne sera pas inutile de fixer l'apparence du stade où nous sommes arrivé, fig. **4**, par sa comparaison avec le spirème définitif, stade terminus, fig. **18**. Dans les deux cas, nous sommes en présence de filaments chromatiques très allongés. Mais dans la première étape, ces filaments sont étirés et minces, et ils zigzaguent au sein du noyau, dans toutes les directions. Au contraire, dans le second stade, ils sont relativement plus courts et beaucoup plus épais; ils gardent une épaisseur sensiblement constante, et se déroulent alors régulièrement dans la cavité nucléaire. C'est entre ces deux stades que nous allons chercher la transition.

C. Stade de contraction synaptique.

Vers l'époque où l'accroissement est parvenu à doubler le volume du noyau, fig. **4**, de nouveaux phénomènes se présentent à notre observation. Une certaine orientation se remarque dans les segments chromatiques.

Jusqu'à ce moment, ils remplissaient régulièrement toutes les parties de la cavité nucléaire, s'y trouvant partout en quantité sensiblement constante, fig. **4**. En ce moment, ils manifestent au contraire une tendance à abandonner toute une zone de la sphère nucléaire et à s'amasser plus nombreux dans l'autre moitié, fig. **5**, **6**, **7**. On voit nettement la transition d'une disposition à l'autre : en effet, les noyaux du type de la fig. **4** se trouvent côte à côte avec ceux de la fig. **5**, dans une même loge.

Un peu plus loin, toujours dans la même loge, on remarque des noyaux où tous les filaments sont amassés dans une seule région de la cavité nucléaire en un grumeau assez compact, se détachant nettement dans l'espace clair qui l'entoure en partie, fig. **6**, **7**, **8**, **9**, **10**. Cette disposition est caractéristique du *synapsis*.

Immédiatement avant le synapsis, SARGANT (96 et 97) décrit dans le filament qui va se contracter une bipartition des granules nucléiniens, et l'interprète comme l'apparition de la division longitudinale. Nous n'avons pas remarqué cette bipartition dont parle l'auteur. Nous ferons d'ailleurs remarquer que SARGANT ne l'a vue que sur des tronçons, et que ces granulations peuvent bien n'être simplement, — ainsi que le faisaient récemment remarquer GRÉGOIRE et WYGAERTS (03), — que de petits renflements marginaux du ruban chromatique, renflements dus en partie à la rupture d'anastomoses.

Le noyau a donc ramassé ses filaments en un grumeau dense. Néanmoins, le grumeau n'est pas également compact dans toute son étendue : quelques filaments d'abord ont échappé à la contraction ; ils s'élancent plus ou moins loin du grumeau dans la partie vide de la cavité, FIG. **6**, **7**, **8**, **9**, **10**, **11** ; — ensuite, les bords du grumeau, quoique surchargés de segments, sont encore assez déchiffrables, et on parvient à y suivre des filaments sur une certaine longueur.

En ce moment, on observe une disposition très remarquable, que VON WINIWARTER (00) a signalée le premier : nous voulons dire la dualité manifeste montrée par certaines parties du filament, ou, en d'autres termes, un parallélisme évident, allant jusqu'au rapprochement intime et à l'entrelacement, entre certains tronçons de filaments. Naturellement, nous ne faisons allusion ici qu'aux filaments dépassant hors du grumeau ou disposés plus lâchement sur les bords de la masse contractée. On en voit qui sont étroitement appliqués sur une grande longueur, FIG. **11**, **14**, avec des fentes brusquement intercalées dans cette union, FIG. **14**, **15** ; d'autres sont entrelacés, FIG. **8**, **9**, **10**, **15**, **16**, ou s'écartent de nouveau en des directions divergentes après avoir été rapprochés, FIG. **15**. C'est surtout dans les préparations où le rasoir n'a isolé que le fond d'un noyau, qu'on peut facilement observer ces apparences : dans certains cas, on trouve des filaments épais mêlés à des minces, FIG. **12** ; dans d'autres, on n'observe que des filaments minces, mais ceux-ci montrent des aspects frappants de rapprochement par paires, FIG. **13**.

Tous les aspects que nous venons de décrire, nous tenons à le faire remarquer dès maintenant, se montrent régulièrement échelonnés dans une seule et même loge.

D. Constitution du spirème et strepsinema.

Le stade qui fait suite à celui que nous venons de décrire montre l'aspect suivant. Une contraction manifeste de l'élément nucléinien indique que le noyau est encore en synapsis, FIG. **17**. Toutefois, le filament chromatique est tout autre. Précédemment, FIG. **7**, **8**, **9**, nous avons décrit la contraction d'un filament mince. Ici, FIG. **17**, le filament contracté est beaucoup plus épais. Son épaisseur est au moins double de celle du filament des stades précédents. Elle est voisine de celle des parties doubles trouvées lors de la première contraction, FIG. **9**, **10**, **11**, **12**, **14**, **15**, **16**. En outre, on n'y remarque plus l'arrangement parallèle de filaments deux à deux.

Si on examine successivement les différents noyaux de la loge, on assiste au déroulement progressif du filament contracté : les anses s'écartent de nouveau, envahissent tout le noyau, et bientôt présentent l'aspect si caractéristique du spirème, FIG. **18**. C'est le « noyau pachytène » décrit par VON WINIWARTER.

Ce spirème subit ensuite les transformations que nous avons décrites dans notre premier mémoire. Il se « dédouble longitudinalement » donnant naissance ainsi au strepsinema (noyaux diplotènes de VON WINIWARTER), FIG. **20** et **21**. Les « moitiés longitudinales » sont les chromosomes-filles de la cinèse hétérotypique.

En résumé donc, les aspects observés durant la période que nous analysons se sérient comme suit :

1° Du réseau de repos se dégagent des *filaments chromatiques minces.*

2° *Ceux-ci se contractent en un grumeau synaptique. En ce moment, on peut voir assez souvent deux segments chromatiques en position parallèle, ou s'unissant intimement sur une certaine étendue de leur longueur.*

3° *Le stade suivant montre un grumeau synaptique constitué par des filaments épais.* On n'y trouve plus de ces dualités.

4° De ce grumeau se dégage le « *spirème épais* ».

5° Celui-ci, par « dédoublement longitudinal », forme les chromosomes-filles de la première cinèse.

III. Interprétation.

Telles sont les diverses étapes qui relient le stade à filaments minces du début aux stades de spirème définitif et de strepsinema.

Avant de rechercher l'interprétation légitime des aspects si caractéristiques du synapsis, nous tenons à insister encore sur la sériation des dispositions nucléaires que nous venons de décrire.

D'abord précisons bien le point délicat.

Dans la sériation que nous présentons, nous rencontrons deux fois des filaments groupés par paires : une première fois, *entre le stade initial à filaments minces*, FIG. **4**, et *le stade de spirème épais*, FIG. **18**; une seconde fois, *après le spirème épais*, au stade strepsinema, FIG. **19**. Cela étant, la question qui se pose est la suivante : le premier stade à dualités est-il différent du second? précède-t-il réellement le stade à spirème épais, ou bien suit-il ce stade? En d'autres termes, les aspects de nos FIG. **8**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14**, **15**, **16**, ne correspondent-ils pas simplement au stade de notre FIG. **20**, mais altéré par une action des liqueurs fixatrices?

Nous ne le pensons pas. Au contraire, nous admettons que ces FIG. **8-16** représentent un stade tout à fait différent de celui de la FIG. **20**, un stade *aboutissant au spirème épais*, tandis que celui de la FIG. **20** est postérieur à ce dernier.

Voici nos raisons.

1° Les différentes étapes de l'évolution nucléaire se succèdent régulièrement, — nous l'avons déjà rappelé, -- aux différents niveaux d'une même loge. Or, dans cette sériation naturelle, nous observons toujours le stade synaptique à dualités entre le stade à filaments minces et celui à spirème épais.

2° De plus, il suffit de comparer le stade des FIG. **8** à **13** avec celui du strepsinema, FIG. **20**, pour constater qu'il est impossible d'identifier ces deux dispositions. Or, les FIG. **14**, **15**, **16**, appartiennent à des noyaux semblables à ceux des FIG. **8** à **13**.

Il est donc certain que le *synapsis à filaments minces parallèles deux à deux* précède le spirème épais.

Nous devons maintenant chercher la portée de ces aspects de filaments appairés. Disons immédiatement que nous leur attribuons une grande importance et que nous admettons, avec VON WINIWARTER, que *durant le stade*

de synapsis, il se produit un accolement de filaments deux par deux et que c'est ainsi que prend naissance le spirème épais. C'est ce que nous allons montrer.

Il est d'abord évident qu'on ne peut pas voir dans ces aspects le résultat d'une division longitudinale. On devrait, dans ce cas, rencontrer à un stade antérieur un filament simple d'épaisseur double. Or, cela n'est pas. La sériation nous ramène invariablement à un filament mince, aussi mince que chacun des filaments accolés.

Il s'agit donc d'un *accolement* et *non d'une division longitudinale.*

Mais deux hypothèses restent encore en présence. Ou bien il s'agit d'accolements *fortuits* entre filaments courant côte à côte, — ou bien nous avons devant les yeux un *phénomène normal et régulier*, constituant la transition entre le filament mince et le spirème épais. C'est bien cette dernière hypothèse qui est la vraie : en effet, les apparences de dualité sont trop nombreuses, leur disposition trop régulière pour qu'on puisse y voir l'effet d'un hasard, FIG. **8** à **16**. Il s'agit là évidemment d'une étape régulière dans l'évolution de l'élément chromosomique.

Cette hypothèse se trouve d'ailleurs confirmée par d'autres considérations. D'abord elle fournit une explication de la transition entre le filament mince du début et le spirème épais. On ne trouve pas, en effet, des stades d'épaississement graduel.

Ensuite, comme le faisait ressortir récemment GRÉGOIRE (04), cette hypothèse de l'accolement est en harmonie avec la nature de la « division longitudinale » du spirème définitif hétérotypique.

Dans les cinèses somatiques, où le clivage est réel, c'est-à-dire se produit dans un filament chromosomique réellement simple, la fente est toujours relativement petite, et les deux moitiés-sœurs restent toujours en position parallèle, quelle que soit la courbure du chromosome. Ici, au contraire, le clivage s'accompagne d'écarts surprenants. Dès le début, des fentes très larges se produisent dans le filament spirématique, et quand le clivage est achevé, les deux « moitiés » montrent des écartements très considérables et manifestent une grande indépendance réciproque, FIG. **20**, **21**. Cette indépendance persiste jusque dans les chromosomes définitifs.

Cette différence entre la division longitudinale somatique et le dédoublement longitudinal du spirème hétérotypique ne s'explique pas si ces deux phénomènes ont la même valeur. Au contraire, on la comprend aisément si la « division longitudinale hétérotypique » n'est que la réapparition de deux filaments primitivement accolés. C'est là ce qui expliquerait cette grande indépendance manifestée dès le début par les « moitiés longitudinales » du spirème.

On pourrait nous objecter ici que la nature du spirème, ainsi que les premiers phénomènes qui préludent à son clivage longitudinal, s'opposent à l'origine que nous lui attribuons, consistant dans l'accolement de deux filaments minces. En effet, on décrit généralement le spirème comme constitué d'un ruban achromatique portant une rangée unique de disques chromatiques simples et autonomes, et l'on admet que la division longitudinale débute par le clivage de ces disques.

Nous n'avons jamais observé pareil spirème dans l'*Allium fistulosum*. Le peloton nous a toujours paru être un filament chromatique homogène, quoique de condensation inégale, FIG. 19. De plus, GRÉGOIRE et WYGAERTS (03) ont démontré qu'une *telle* structure lininienne-chromatique, attribuée au spirème somatique, n'est qu'une apparence. — Enfin SARGANT (96 et 97), bien qu'admettant dans le peloton une «linin matrix», n'a pas vu cependant dans le spirème définitif des disques simples.

De tout ce qui précède, nous concluons donc que durant le synapsis les filaments minces s'accolent deux par deux, constituant ainsi les tronçons spirématiques. Ceux-ci, en se «dédoublant longitudinalement», ne font que se dissocier en leurs deux filaments constitutifs. Les deux filaments accolés sont donc, dans chaque chromosome hétérotypique, les deux chromosomes filles de la première cinèse.

Il reste donc, pour connaître la valeur de cette première cinèse, à savoir *quelle est la valeur de ces filaments accolés*. Il semble bien évident que tous ces faits, si caractéristiques et propres à la prophase de la cinèse à nombre réduit de chromosomes, ne s'expliquent que si l'on admet que *chacun de ces filaments représente un chromosome somatique*. Par conséquent, les «chromosomes» hétérotypiques représentent deux chromosomes somatiques juxtaposés, et la première cinèse, en séparant les chromosomes-filles, sépare en réalité deux chromosomes somatiques complets, et *opère* la réduction de nombre. GRÉGOIRE (04) a récemment dégagé le sens de ces phénomènes. Nous renvoyons le lecteur à sa note.

IV. Synapsis.

Nous avons exposé la suite des phénomènes qui se passent dans le noyau microsporocytaire durant la formation du spirème sans tenir compte de la contraction synaptique elle-même. Nous nous sommes borné à décrire à ce moment un accolement de deux filaments et à constater que la forma-

tion d'un grumeau synaptique voile en partie cet accolement. Elle nous oblige, en effet, à l'étudier sur les quelques filaments qui n'ont pas pris part à la contraction.

La question se pose : cette contraction est-elle naturelle? Si elle est naturelle, quelle est sa signification?

SARGANT (97) a tâché d'étudier ce synapsis sur matériel vivant. Nous avons répété son expérience et nous avons observé également une certaine contraction. Voici comment nous nous y sommes pris.

Plusieurs jours consécutifs, de bon matin, nous avons été faire une récolte d'*Allium fistulosum* au jardin botanique et avons renouvelé les expériences d'observation. Nous exprimions le suc de la hampe florale sur un porte-objet, en quantité suffisante pour supporter un cover. Au centre, nous avions laissé un endroit libre, que nous remplissions d'une goutte du suc exprimé des feuilles du périanthe, et dans cette goutte centrale, en pressant doucement de haut en bas une anthère ouverte préalablement au sommet, nous lui faisions rendre le contenu de ses loges. Le microscope était prêt à recevoir la préparation. Une fois, nous avions choisi des fleurs trop jeunes, et avons trouvé les cellules-mères à peine au sortir du repos; toutes les autres fois, nous avons rencontré le synapsis. Une photographie même en a été prise, mais la plaque sensible n'enregistre que vaguement les détails de ces cellules vivantes où tous les éléments sont presque d'égale réfringence. L'œil néanmoins distinguait parfaitement *le grumeau tranchant sur le fond clair de la cavité nucléaire vidée.*

La contraction synaptique est donc *en partie du moins* naturelle.

Nous ferons d'ailleurs remarquer que les explications qu'en ont données les auteurs qui la considèrent comme *entièrement* artificielle ne semblent guère satisfaisantes. On fait appel surtout à une certaine sensibilité spéciale de la chromatine à ce stade. Mais cette sensibilité est fort indéfinie et fort hypothétique. De plus, on se demande pourquoi elle se manifesterait seulement durant ce moment précis de la prophase et non pas un peu plus tôt, par exemple lorsque les filaments chromatiques se dégagent du repos. On se demande encore pourquoi cette sensibilité caractériserait la prophase hétérotypique et ne se rencontrerait jamais dans la prophase somatique.

Il semble évident que l'influence des réactifs ne pourrait qu'accentuer une contraction déjà existante.

Comment alors interpréter cette contraction? Peut-être trouve-t-elle son explication dans la combinaison de deux circonstances : d abord *l'orientation télophasique* de la dernière cinèse sporogoniale persistant dans les

dérivés filamenteux de chacun des chromosomes somatiques; ensuite *le rapprochement et l'accolement* qui se produisent entre ces filaments deux à deux. Il en résulterait un *ramassement* du noyau conservant la *polarité* de la télophase précédente.

Nous n'ajouterons qu'une remarque concernant l'interprétation de ce stade d'après SCHOENFELD (01). Cet auteur attribue la contraction de la chromatine dans une région du noyau à une attraction exercée par les corpuscules centraux, situés toujours, d'après l'auteur, dans la région du protoplasme voisine du grumeau synaptique. Cette explication ne saurait convenir aux sporocytes des plantes supérieures. En effet, il n'y existe pas de corpuscules centraux. Et on ne peut même pas faire appel à une influence exercée par un centre cinétique quelconque. Le fuseau, en effet, est au début pluripolaire, ce qui exclut une action attractive si nettement localisée.

CONCLUSIONS.

1° Dans la première période de la prophase hétérotypique comprise entre le dernier repos sporogonial et la constitution du spirème définitif, on rencontre les *stades suivants* :

a) Constitution de filaments minces aux dépens des chromosomes sporogoniaux.

b) Leur contraction en synapsis.

c) Le déroulement du synapsis en un spirème épais.

2° Pendant le synapsis, on observe des dualités évidentes, des rapprochements de filaments deux à deux.

3° Ces rapprochements ne peuvent s'interpréter que comme l'accolement longitudinal de deux filaments amenant la formation du « spirème épais ».

4° La « division longitudinale » du spirème n'est pas véritable. C'est la réapparition de la fente d'accolement.

5° Par conséquent, la réduction de nombre de la prophase hétérotypique est une « Scheinreduktion ». En effet, elle est due à l'accolement de deux chromosomes somatiques, qui jouent dans les chromosomes maturatifs le rôle de bâtonnets-filles. La réduction s'opère réellement par la première cinèse, séparant ces deux chromosomes-filles.

BIBLIOGRAPHIE.

1896 *Dixon* : On the chromosomes of Lilium longiflorum; Proc. Roy Irish Acad.

1901 » : On the first mitosis of the sporemother cells of Lilium; Note from the Bot. School of Trin. Coll. Dublin.

1903 *Farmer et Moore* : New investigations into the reduction phenomena of animals and plants; Proc. of the R. Soc., v. LXXII.

1903 *Grégoire et Wygaerts* : La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques I. Racines de *Trillium grandiflorum* et télophase homœotypique dans le *Trillium cernuum*; La Cellule, t. XXI, 1er fasc.

1904 *Grégoire* : La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation; La Cellule, t. XXI, 2d fasc.

1901 *Janssens* : La spermatogénèse chez les tritons; La Cellule, t. XIX, 1er fasc.

1903 *Janssens et Dumez* : L'élément nucléinien pendant les cinèses de maturation des spermatocytes chez *Batrachoseps attenuatus* et *Pletodon cinereus;* La Cellule, t. XX, 2d fasc.

1896 *Sargant* : The formation of the sexual nuclei in Lilium martagon. I. Oogenesis; An. of Bot., v. X, n. 39.

1897 » : Id. II. Spermatogenesis: An. of. Bot., v. XI, nº 42.

1901 *Schoenfeld* : Spermatogénèse chez le taureau; Arch de Biol., t. 18.

1904 *Strasburger* : Ueber Reduktionstheilung; Sitzb. der Kön. Preus. Ak. der Wiss., XVIII.

1900 *von Winiwarter* : Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des mammifères; Arch. de Biol., t. 17.

1904 *Berghs* : La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogénèse végétale. I; La Cellule, t. XXI, fasc. 1.

EXPLICATION DES FIGURES.

Nous nous sommes servi de l'objectif apochromatique d'ouverture 1.30 *de* Zeiss *et de l'oculaire compens.* 12. *Les dessins ont été pris à la hauteur de la table de travail.*

FIG. **1**. Télophase de la dernière division sporogoniale. — Réseaux chromosomiques (noyau sup.) produisant par leur juxtaposition le réseau nucléaire (noyau inf.).

FIG. **2**. Noyau microsporocytaire au début du stade d'accroissement. Structure réticulaire.

FIG. **3**. Même noyau en accroissement.

FIG **4**. L'accroissement est presque complet. Les filaments sont dégagés, presque entièrement, de leurs anastomoses.

FIG. **5**. Début de la contraction synaptique.

FIG. **6**. La contraction s'accentue.

FIG. **7**. Synapsis.

FIG. **8** et **9**. Stade de contraction synaptique. — Mélange de filaments minces et épais. Dualités manifestes.

FIG. **10**. Id. — Dualités et parallélisme.

FIG. **11**. Id. — Dualités et parallélisme.

FIG **12** Id — Fond de noyau. Mélanges de filaments minces et épais. Dualités.

FIG. **13**. Id — Dualités, parallélisme.

FIG. **14**, **15** et **16**. Dualités trouvées au stade *de la contraction synaptique*.

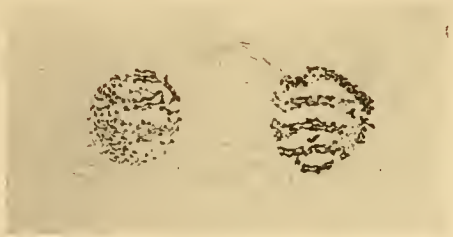
FIG. **17**. Grumeau synaptique formé de filaments épais. — Début du déroulement.

FIG. **18**. Le spirème produit par déroulement du grumeau synaptique.

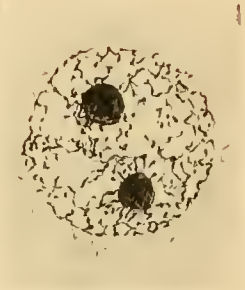
FIG. **19**. Tronçons de filament spirématique. Le filament n'est pas de condensation nucléinienne uniforme.

FIG. **20**. Le stade strepsinema. — La division longitudinale est achevée.

FIG. **21**. Chromosomes entiers au sein du stade strepsinema Indépendance des deux moitiés constitutives.

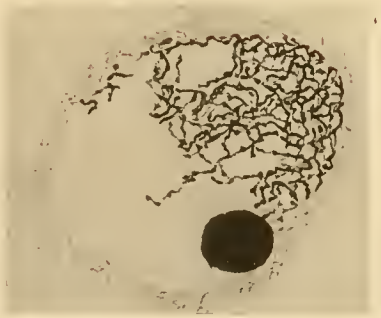

1

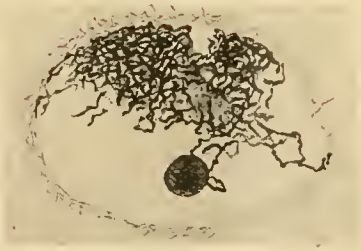
2


3

4

5


6


7

8

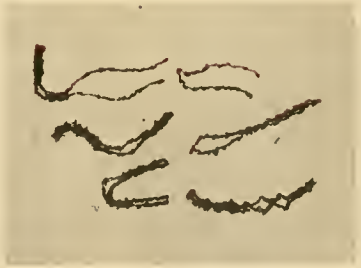
9

10

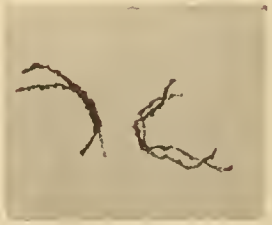
11

12

13


14

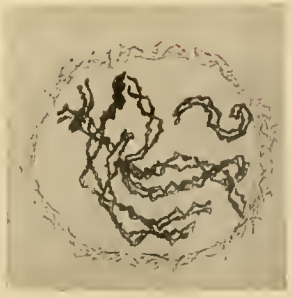
15


16

17

18

19


20

21

J. Berghs, ad. nat. delin.

L. L. Lagaert. Brux.

L'Évolution du Spermatozoïde

DE

L'HELIX POMATIA

PAR

Arthur BOLLES LEE

(*Mémoire déposé le* 18 *août* 1904.)

L'Évolution du Spermatozoïde de l'Helix pomatia

INTRODUCTION.

Celui qui, par ses propres observations, s'est familiarisé avec la structure du spermatozoïde adulte de l'escargot, telle qu'elle a été décrite dans un mémoire précédent [1], sentira sans doute que ce doit être une tâche à peu près désespérée que de rechercher l'origine de tant de formations si petites et si délicates, si difficiles même à voir que quelques-unes d'elles, même des plus importantes, sont demeurées invisibles aux observateurs qui se sont occupés de cet objet. Et en effet, j'ai expérimenté que c'est une tâche excessivement ardue. Pour connaître toute l'histoire de ce spermatozoïde, il faudrait connaître le mode de développement de l'endosome de la tête, de l'exosome avec ses côtes, de l'endostyle primaire et de l'endostyle accessoire, de l'endolemme, du plateau antérieur, du prolongement odontoïde, de la membrane cervicale, de l'exolemme et de l'exospire, et du bouchon terminal. Or, malgré de longues études, je n'ai pas pu résoudre tous ces problèmes : mais, ayant poussé mes recherches aussi loin que cela m'a été possible, je me décide à publier les résultats que j'ai obtenus, pensant que, quoiqu'incomplets, ils ne doivent pas être sans intérêt.

Quelques auteurs déjà ont publié des observations concernant le mode d'origine de celles d'entre les diverses parties constituantes du spermatozoïde dont ils avaient reconnu l'existence. Ces observations ont trait surtout à l'origine du cylindraxe.

Godlewski [2] décrit dans les jeunes spermatides un « Centralkörper » ou « Centrosoma », situé près du noyau, à l'extrémité d'un cône dérivé des filaments rétracteurs du dernier fuseau (Zugfasernkegel).

---

(1) A. Bolles Lee : *La structure du spermatozoïde de l'Helix pomatia;* La Cellule, t. XXI, 1r fasc., 1904.

(2) E. Godlewski, junr. : Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau, juillet et novembre 1897, et à part, en Polonais, avec planche, 1898.

Ce « centrosome » entrerait par la suite dans le noyau, y resterait, et deviendrait le « centrosome » du spermatozoïde.

Mais il décrit aussi un « petit corpuscule » qui sortirait du noyau, demeurerait pendant quelque temps dans « l'espace clair qui se trouve entre la chromatine et la membrane nucléaire », puis émigrerait autour de cet espace jusqu'à atteindre le pôle du noyau, où il deviendrait le « Spitzenknopf » du spermatozoïde.

Ni l'un ni l'autre de ces corpuscules ne jouerait un rôle dans la formation du cylindraxe. Celui-ci prendrait son point de départ de l'endroit où se trouve le « centrosome », près du noyau, et serait formé par la condensation de « traînées parallèles de granules protoplasmiques ».

Nusbaum [1] trouve que les spermatides possèdent un ou deux « centrosomes », situés dans le cytoplasme, sans rapport avec le noyau. L'un de ces centrosomes, le proximal, se transformerait en un disque portant une petite baguette, se rapprocherait ensuite du noyau, se logerait dans la cavité cotyloïde de celui-ci, et y formerait l'axe du « Mittelstück ». L'autre, le distal, s'éloignerait alors du proximal, en laissant entre les deux une étroite traînée de substance sidérophile, qui devient bientôt un cylindre nettement différencié, qui est le cylindraxe.

Mais, comme Godlewski, il décrit également un corpuscule, qu'il appelle « nucléole », qui sortirait du noyau, demeurerait pendant quelque temps dans le « suc nucléaire » (Kernsaft) qui entourerait le noyau à ce moment, et ensuite deviendrait le « Spitzenknopf » de la tête (vertex, *mihi*).

D'après K. von Korff [2], les spermatides possèderaient d'abord trois corpuscules centraux, puis deux, situés au pôle de la cellule. De ces deux corpuscules, l'un, extérieur, se transforme en un cil; l'autre, intérieur, se transforme en une baguette (endostyle primaire *mihi*) qui s'allonge jusqu'à atteindre le noyau, auquel il s'unit. Et c'est tout : von Korff ne mentionne ni ne figure le « petit corpuscule » de Godlewski, ni le « nucléole » de Nusbaum.

Or, d'après mes observations, ces auteurs ont bien vu sous ce rapport. Ce corpuscule existe et joue dans la spermatogénèse un rôle tout aussi considérable que celui du corpuscule polaire. Je le décrirai sous le nom de *corpuscule antipolaire*. J'exposerai également les motifs pour lesquels j'admets que l'endostyle primaire ne dérive ni de l'un ni de l'autre de ces cor-

(1) J. Nusbaum : Anatomischer Anzeiger, XVI. Bd., 1899, p. 171.

(2) K. von Korff : Archiv f. mikroskopische Anatomie, Bd. LIV, 1899, p. 291.

puscules, qui n'en forment que les deux extrémités, tandis que toute sa portion intermédiaire résulte d'une transformation de l'axe de l'hyaloplaste [1].

Les états successifs de l'évolution de la spermatide peuvent être classés d'une façon assez naturelle en prenant pour base les états successifs du noyau. On reconnaît ainsi les stades principaux de

1) Noyau sphérique.
2) Noyau en Saturne.
3) Noyau fungiforme.
4) Noyau cordiforme.
5) Noyau subulé.

Cependant, dans l'exposition qui va suivre, il a paru préférable de ne pas décrire ces stades un à un, mais, après avoir décrit les stades de noyau sphérique et noyau en Saturne, d'étudier séparément les transformations du Nebenkern, de la portion polaire de l'hyaloplaste, du corpuscule antipolaire et de la portion antipolaire de l'hyaloplaste, jusqu'au stade de noyau fungiforme, puis d'esquisser en bloc les stades ultérieurs.

---

[1] J'ai suffisamment expliqué dans des publications antérieures ce que j'entends par ce terme (*Les cinèses spermatogénétiques chez l'Helix pomatia*; La Cellule, t. XIII, 1897, p. 215, et *Nouvelles recherches sur le Nebenkern et la régression du fuseau caryocinétique*; ibid., t. XX, 1902, p. 183). Je renvoie à ces publications pour ce qui concerne l'hyaloplaste, et à mon mémoire *Sur la structure du spermatozoïde de l'Helix pomatia* pour ce qui concerne les détails de structure du spermatozoïde et la terminologie employée pour les décrire.

Chapitre I.

Le noyau sphérique et le noyau en Saturne.

Je crois, mais sans en être certain, que les chromosomes de la couronne polaire de la dernière division se réunissent en un peloton-fille ou spirème unique. Que cela soit ou non, à partir de ce moment l'élément nucléinien subit une transformation que je ne puis mieux décrire qu'en disant qu'il « entre en résolution ». Il offre des apparences qui font penser au premier abord à une alvéolisation du cordon (ou des chromosomes), FIG. **1**, **2**, **5**, par exemple. Mais je ne crois pas que cette explication soit la bonne. Il semble plutôt que le cordon se dilate, se détend, et émet, c'est-à-dire met en liberté, un filament très fin, incomparablement plus fin que le cordon lui-même (ou que les chromosomes), qui s'étend en des zig-zags multiples et serrés à travers tout l'espace du noyau qui n'est pas occupé par l'hyaloplaste, FIG. **2**, **3**, **5**, **6**, **12**. En tout cas, on peut reconnaître avec certitude qu'un peu plus tard la structure du noyau est essentiellement celle d'un réseau serré formé par un filament très fin et étroitement pelotonné, FIG. **12** à **51**, et surtout **9**, **24**, **33**, **34**, **35**, et d'autres.

Ce filament n'est pas de calibre régulier, mais se renfle par places en des blocs généralement irréguliers, informes, mêmes figures, quelquefois arrondis, FIG. **5** et **6**, et par places dans d'autres figures. Il me semble possible que ces blocs ne sont pas constitués par un simple renflement du filament fin, mais qu'ils représentent des endroits où ce filament est enroulé sur lui-même si étroitement que nous ne pouvons pas optiquement en résoudre les tours. Mais il se peut aussi qu'ils soient de vrais blocs informes de nucléine, desquels le filament sort par une sorte de filage.

Lorsque ces blocs sont arrondis, FIG. **4**, **5** et **6**, ils peuvent faire l'impression d'être des *nucléoles*. Mais je pense qu'ils ne le sont pas. Car ils n'offrent pas les réactions tinctoriales des nucléoles, mais celles de la nucléine. Je n'ai jamais pu constater l'existence d'un nucléole plastinien dans les spermatides, pas plus que dans les spermatocytes de second ordre, et je pense que les auteurs qui en ont décrit dans ces cellules se sont trompés.

La membrane nucléaire s'établit à une distance considérable de l'élé-

ment nucléinien, ou du moins, si cela n'est pas, se soulève-t-elle aussitôt formée, FIG. **2** et **3**. Mais plus tard, le noyau se gonfle un peu, et alors la membrane embrasse étroitement le réseau nucléinien, comme on le voit dans les figures des stades suivants. Ces faits ont une certaine importance, parce qu'ils peuvent souvent servir à déterminer l'âge d'un noyau. Par exemple, toutes les fois que la membrane nucléaire se présente comme celle de la FIG. **2**, on peut être certain que le noyau est à peu près au stade figuré.

A mesure que le noyau vieillit, il prend par les réactifs une coloration foncée diffuse, due sans doute à un dépôt de nucléine dans l'enchylème.

Le noyau tout à fait jeune est réniforme (fig. 34 de mes *Nouvelles recherches*), puis il devient ovale, FIG. **1**, puis sphérique, figures suivantes.

Pendant ces stades, l'hyaloplaste peut être vu, ou entrevu, à l'intérieur du noyau sous la forme d'une tache claire irrégulière, FIG. **6**.

Les noyaux tout à fait jeunes ont le plus souvent environ 5 microns en diamètre, FIG. **1** et **2**; mais lorsqu'ils se sont gonflés, ils en ont environ 6, ou jusqu'à 6 1/2, FIG. **5** et **6**.

Lorsqu'ils ont atteint cette taille, un phénomène très curieux commence à se manifester. Le réseau nucléinien se condense ou se concentre sur un des hémisphères du noyau, laissant l'autre relativement plus clair, FIG. **22**, **23**, **24**, **25**, **33** à **35** et d'autres des stades suivants. En même temps, il se marque entre les deux hémisphères une bande transversale tout à fait claire, qui aboutit, dans les vues de face, de chaque côté à une boule parfaitement claire, qui fait saillie au-delà du niveau du noyau à la manière d'un verre de montre très bombé, mêmes figures, puis FIG. **26** et **27**. Il en résulte, comme l'a fait remarquer ZIMMERMANN [1], que le noyau en cet état fait penser involontairement à la planète Saturne munie de son anneau.

Voici la description que donne ZIMMERMANN de ces *figures saturniennes*. Il dit :

« A l'équateur du noyau, c'est-à-dire dans un plan qui est parallèle à la base de la cellule et perpendiculaire à l'axe qui passe par le centre du noyau et celui du Nebenkern, la membrane nucléaire est déchirée et tout le noyau est défoncé en une gouttière peu profonde. Le fond de cette gouttière n'est pas lisse, mais comme rongé. Dans cette gouttière se trouve un anneau clair, plus ou moins complet, qui déborde fortement au-delà de la surface

---

[1] K. ZIMMERMANN : *Ueber den Kerntheilungsmodus bei der Spermatogenese von Helix pomatia;* Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft, 1891, p. 187.

du noyau. Souvent, il est beaucoup moins épais d'un côté que de l'autre, ou bien il est réellement incomplet et quelquefois étranglé (eingeschnürt).

« Ce phénomène se montre régulièrement sur toutes les cellules d'une même colonie, et ne fait jamais défaut à ce stade de la spermatogénèse. Il semblerait que, par suite de la contraction du noyau et de la condensation de la chromatine, une substance qui se trouve dans le noyau, et qui doit être incompressible, ne trouve plus une place suffisante dans le noyau, et se fraie un chemin au dehors en faisant sauter la membrane nucléaire, plus faible à l'équateur qu'ailleurs.

« Dans les préparations qui ont été traitées par des réactifs, la substance elle-même paraît avoir été enlevée par dissolution, de sorte que l'anneau n'est plus représenté que par une vacuole remplie par le liquide de la préparation. »

Je suis à peu près d'accord, mais pas entièrement. D'après mes observations, il ne suffit pas de dire que l'anneau est quelquefois incomplet; au contraire, il l'est toujours. L'image d'anneau de Saturne ne se montre que lorsque le noyau est orienté d'une certaine façon, FIG. **22**, **23**, **24**, **33**, **34**, **35**, **26**, **36**, **29**, **30**. Dans d'autres orientations, la gouttière, vue par un bout, ne se présente que sur un côté du noyau, FIG. **28**, **46**, **40**, **44**, **43**, **41**. J'en ai conclu que la fente ou gouttière n'intéresse jamais tout le pourtour du noyau, mais en général seulement la moitié environ, ou au plus les deux tiers.

Puis il me semble qu'il n'est pas tout à fait exact de dire que « le noyau est défoncé en gouttière ». Car le corps clair que ZIMMERMANN appelle « anneau » me paraît être situé en dedans de la membrane nucléaire, qu'il soulève sans la déchirer. De plus, il me semble que le plus souvent, si non toujours, il est situé même un peu au-dessous de la couche superficielle du réseau nucléinien. Car dans les vues de surface, FIG. **22** et suivantes, on trouve le plus souvent, en mettant bien au point, qu'il y a quelques trabécules de ce réseau et au-dessus et au-dessous de la bande claire. Je pense donc que nous n'avons pas affaire à un anneau superficiel, même incomplet, mais à un corps cylindrique qui transperce le noyau excentriquement, entrant d'un côté et sortant de l'autre.

Ce qui vient appuyer cette manière de voir, c'est que souvent on voit ce corps se continuer, d'un côté du moins, si non des deux, au-dehors du noyau, FIG. **25**, **28**, **29**, **32**, **27**, **31**, **30**, **37**, **38**. En un mot, je pense qu'il n'est autre chose que l'*hyaloplaste*, qui en ce moment traverse le noyau, étant logé pendant son trajet dans un canal, plus ou moins profondément

situé, qui s'est formé dans le noyau par suite du développement de l'hyaloplaste lui-même. Ce point de vue sera plus amplement motivé, lorsque nous étudierons le développement de l'hyaloplaste dans le chapitre suivant.

Il est étonnant que ce phénomène si frappant de l'anneau de Saturne n'ait été remarqué par aucun autre observateur que ZIMMERMANN. Je l'ai moi-même observé ailleurs que chez l'escargot, et je ne serais pas étonné de trouver qu'il constitue un phénomène fort répandu dans la spermatogénèse.

CHAPITRE II.

Le Nebenkern.

Le pôle des spermatides nouvellement formées a été décrit en détail dans mes *Nouvelles recherches sur le Nebenkern*, et expliqué à l'aide des dessins fig. 30 à 49. Je suppose connue la description que j'en ai donnée, mais je la résume brièvement ici pour y rattacher de nouveaux détails concernant l'hyaloplaste et le Nebenkern.

Il y a été montré que le pôle à ce stade consiste en un groupe de rayons de fuseau arrangés en parasol autour de l'hyaloplaste (FIG. 1, ici). Celui-ci, a-t-il été dit (op. cit., p. 199), se montre sous la forme d'une languette pâle, très acuminée, qui peut être suivie jusque dans le noyau (fig. 32 à 41 du mémoire cité, et FIG. 1 ici). Il est terminé ou coiffé par un petit corpuscule conique, assez acuminé, que j'ai appelé alors « l'acrosome ». Il m'est revenu depuis que ce terme a été employé déjà, par VON LENHOSSEK, pour désigner une autre formation : en conséquence, je le retire et emploierai désormais celui de « épine apicale » ou « épine fusoriale » [1].

C'est le sort de ces trois éléments que nous avons maintenant à suivre. Commençons par le Nebenkern.

---

[1] Il me paraît incontestable que cette épine correspond à ce que d'autres auteurs ont nommé « corpuscule central », ou centriole », et l'on peut se demander pourquoi je ne conserverais pas l'une ou l'autre de ces dénominations C'est que le terme de « corpuscule central » est très équivoque, car il a été appliqué à des formations très diverses Et celui de « centriole » me paraît consacrer une idée fausse, en ce qu'il implique que le corps en question ne serait qu'une différentiation matérielle au centre d'un corpuscule plus grand, le « centrosome » : ce qui, à mon sens, n'est pas le cas. Car je pense que, même lorsqu'il existe un « centrosome », ce n'est pas à lui que l'épine appartient, mais à l'hyaloplaste. Et dans les spermatides, il n'y a rien qui rappelle un « centrosome » ; comparez les figures montrant des « centrosomes » ou « centroplasmes » dans la planche des *Nouvelles recherches* (fig. 1 à 4 et 29 à 30) avec les dessins du présent mémoire.

Il a été expliqué dans les *Nouvelles recherches* que, lors de la formation du noyau, les rayons du fuseau sont coupés par étirement à leur base, ce qui les met en liberté du côté des chromosomes (fig. 33 à 43 du mémoire cité, et FIG. **1** ici). En même temps (mémoire cité, pp. 190, 194 et suivantes), il se forme à l'extrémité polaire de chaque rayon un microsome fusiforme, l'ensemble de ces microsomes formant l'*anneau polaire*, fig. 32 à 39 du mém. cité, et FIG. **1** ici. Cet anneau disparaît bientôt, fig. 40 à 49 du mémoire cité, et FIG. **2** et suivantes ici. Il le fait, si je ne me trompe, par étapes, les microsomes se fusionnant entre eux par petits paquets, qui disparaissent ensuite. Cela fait que dans l'anneau polaire nous pouvons compter d'abord une demi-douzaine de microsomes entourant l'épine de l'hyaloplaste, puis 4 ou 3, puis deux ou un seulement à côté de l'épine. Lorsque ce dernier cas se présente, ce qui est très fréquent, nous avons l'apparence représentée dans la FIG. **3**, qui montre le Nebenkern portant deux granules assez semblables, de sorte qu'on a l'impression que l'épine apicale s'est divisée en deux granules situés sur une ligne tangentielle. Je crois que cela peut arriver, comme je l'ai admis pour les fig. 43, 48 et 49 des *Nouvelles recherches* : mais je suis certain aussi que des apparences semblables peuvent résulter de la fusion successive des microsomes de l'anneau. Il me paraît incontestable aussi que les trois « Centralkörper » décrits par VON KORFF (op. cit., p. 294 et sa fig. 1) représentent l'épine apicale avec deux gros microsomes de l'anneau polaire.

Souvent aussi, les microsomes se fusionnent tous ensemble en un anneau continu, comme il a été dit dans les *Nouvelles recherches*, p. 195. En tout cas, l'anneau disparaît de bonne heure, et par ce fait les rayons du fuseau se trouvent détachés de l'hyaloplaste du côté polaire.

Cela fait, les rayons fusoriaux ne tardent pas à s'agglomérer et se condenser en une masse conique, qui est le Nebenkern, fig. 40 à 49 des *Nouvelles recherches*, et FIG. **2**, **3** et suivantes ici. J'ai déjà esquissé (op. cit., p. 202) son sort ultérieur en ces termes :

« Pendant les premiers stades de la formation du Nebenkern, l'hyaloplaste demeure d'habitude en place dans l'axe de la masse fusoriale conique, à laquelle il fournit une sorte d'axe ou tige, par exemple fig. 34, 40, 41 ou 42. Dans des stades beaucoup plus avancés, on le trouve en dehors de cette masse, qui se montre jetée de côté, n'importe où, dans la cellule, par exemple fig. 50 et 51. Il émigre donc toujours du Nebenkern à un moment ou un autre. D'après mes observations, il le fait en se frayant un chemin latérale-

ment à travers une fente qu'il produit dans la masse fusoriale. Dans la fig. 43, dans laquelle son contour est indiqué par une ligne pointillée, il paraît être en train d'en sortir, s'il n'est déjà sorti. Dans les fig. 46, 48 et 49, il est déjà sorti, et se montre placé tangentiellement au Nebenkern, mais en contact avec lui par son sommet. La sortie peut être retardée au-delà du stade représenté par ces figures.

Je n'ai rien à ajouter à cette description en ce qui concerne les sorties qui se font de bonne heure (cf. les FIG. **5** et **6**); mais il me paraît important de dire deux mots des apparences qui se présentent lorsque la sortie est tardive, cas qui est tout aussi fréquent que l'autre.

Dans les FIG. **2**, **3**, **4**, l'hyaloplaste est encore dans le Nebenkern. Il s'y présente comme une bande claire si vague qu'on a de la peine à l'apercevoir, et que même très souvent on ne peut pas dire qu'on le voit avec certitude. Mais dans des stades un peu plus avancés, lorsque lui-même il s'est un peu développé, il donne une image plus forte, et on le voit mieux, FIG. **7**, **8**, **21** On voit que dans ces figures il part de l'extrémité proximale d'une baguette, qui évidemment n'est autre chose que la première ébauche de l'endostyle primaire. Cette ébauche est encore, dans ces figures, située au-delà du Nebenkern; mais à mesure qu'elle s'allonge, elle pénètre dans celui-ci, et il devient facile de constater qu'elle y est effectivement, FIG. **9**, **16**, **18**. On y voit, avec toute la certitude qu'on pourrait souhaiter, comment l'endostyle pénètre dans le Nebenkern sur une distance plus ou moins grande, puis se continue (FIG. **21** et **9**) avec l'hyaloplaste non modifié, visible sous la forme d'une languette claire se dirigeant vers le noyau. Dans la FIG. **21**, cette languette paraît être en train de sortir latéralement du Nebenkern.

Le stade des FIG. **9** et **16**, c'est-à-dire un stade dans lequel l'ébauche sidérophile de l'endostyle primaire a atteint une longueur de deux ou trois microns, est en général le dernier dans lequel on trouve l'hyaloplaste dans le Nebenkern. Cependant j'ai vu des colonies dans lesquelles il n'avait pas encore fait sa sortie, alors que l'endostyle mesurait déjà 5 à 6 microns de longueur, c'est-à-dire se trouvait au stade des FIG. **23** à **25**.

Lorsque la sortie est tardive, il arrive que le Nebenkern se trouve être largement creusé par le développement de l'hyaloplaste dans son intérieur, et que ses couches extérieures se sont fortement condensées (apparemment par le fait que sa substance a été refoulée au dehors par la croissance de l'hyaloplaste). Il n'est plus alors qu'une coque à parois très épaisses, sauf selon une ligne où se produira la fente de sortie. Et lorsqu'on met au point

sur sa coupe optique médiane, FIG. **18**, on peut très bien avoir l'impression qu'on a devant soi l'endostyle libre, mais accompagné de chaque côté d'un corps cylindrique (coupe optique de la paroi du Nebenkern).

Or il paraît fort possible que des observateurs aient déjà été induits en pareille erreur. On rencontre dans la littérature des dessins d'images expliquées par les auteurs comme provenant d'une division du Nebenkern, division qu'il conviendrait de ne pas admettre sans des preuves très précises.

CHAPITRE III.

La portion polaire de l'hyaloplaste.

Lorsque l'anneau polaire a disparu, l'hyaloplaste n'est plus coiffé que par un seul corpuscule sidérophile, l'épine apicale (FIG. **2**, et fig. 40 et 41 des *Nouvelles recherches*). Mais bientôt, au lieu d'un seul corpuscule, on en aperçoit deux au sommet du Nebenkern. Ils sont situés ou bien tangentiellement, FIG. **3** (et fig. 43, 46, 48, 49 des *Nouvelles recherches*), ou verticalement, FIG. **4** et **5** (et fig. 42, 44, 47 et 45 des *Nouvelles recherches*).

Lorsqu'ils sont tangentiels, il est possible, comme il a été dit, que l'un d'eux ne soit que le dernier reste de l'anneau polaire. Je pense que cela est le cas pour la FIG. **3**. Mais lorsqu'ils sont situés sur une ligne verticale, et surtout lorsqu'ils sont rapprochés au point d'être contigus ou de se toucher presque, comme c'est le cas pour les FIG. **4** et **5**, il y a lieu de se demander si l'un d'eux n'est pas le produit d'une division de l'épine apicale. Je ne puis résoudre cette question d'une façon positive : tout ce que je puis dire est que je n'ai pas réussi à obtenir des images montrant d'une façon certaine la division du corpuscule primitif. Et je dois dire que je ne vois pas de motif qui oblige à admettre cette division. Car pourquoi l'hyaloplaste, qui vraisemblablement a formé le corpuscule extérieur, n'en formerait-il pas un autre en dedans du premier? Il semble même que c'est là la manière de voir la plus naturelle, et que le corpuscule intérieur n'est que le premier signe visible de la transformation de l'axe de l'hyaloplaste, qui sert à former l'endostyle primaire, comme nous le verrons.

Les deux corpuscules sont d'abord presqu'exactement semblables, la seule différence étant que le plus extérieur est toujours pointu, et que très tôt il se prolonge en un cil, FIG. **4** et **5**.

Cependant, aussitôt que le cil a été formé, le corpuscule extérieur se développe en largeur, devient discoïde ou infundibuliforme, FIG. **6** et **7**, le corpuscule intérieur restant sphérique ou tendant à s'allonger dans le sens vertical, FIG. **6**.

Puis, du côté proximal du corpuscule intérieur viennent se déposer successivement dans l'axe de l'hyaloplaste de nouvelles portions de matière sidérophile, de sorte que bientôt (FIG. **7**, **8**, et suivantes) on voit le corpuscule cilié se continuer vers le noyau par une baguette noire, située dans l'axe de l'hyaloplaste, et passant soit à travers le Nebenkern, soit à côté de lui, selon que l'hyaloplaste à ce moment a déjà effectué sa sortie ou non, comme cela a été expliqué plus haut. Il n'est guère besoin d'ajouter que cette baguette n'est autre chose que la première ébauche de l'*endostyle primaire*.

Cette baguette *paraît* toujours moniliforme, ou du moins granuleuse, FIG. **8** et suivantes, et spécialement FIG. **34**, jamais parfaitement lisse (comme l'a dessinée VON KORFF, op. cit. dans l'introduction). J'ai pensé pendant longtemps que cette apparence n'était que l'expression du fait que l'endostyle se formait par l'addition successive de granules relativement gros, à partir du corpuscule intérieur. Mais je ne suis plus aussi certain de cela. Car il se pourrait bien que cette apparence résulte de la superposition sur l'image de l'endostyle de celle des spires de l'exolemme, qui est déjà ébauché, si non actuellement formé, à ce stade, FIG. **6**, **27**, **28** et d'autres.

Ce qui tend à confirmer cette manière de voir, c'est qu'on obtient très facilement des images comme celle que j'ai essayé de représenter dans la FIG. **18**. On voit la portion déjà formée de l'endostyle, parfaitement noire par l'hématoxyline ferrique, se prolonger vers le noyau par une ligne vague, souvent brisée, très pâle. On ne peut se défendre de l'impression que la matière sidérophile se dépose d'abord sous forme d'une poudre excessivement fine, dont les granules constitutifs, trop petits pour être nettement vus isolément, se condensent ensuite pour former le cylindre compact de l'endostyle. Des lignes pâles semblables se voient dans les FIG. **16**, **17**, **22**, **23**, **28**.

La FIG. **6** paraît très instructive à cet égard. Elle représente une cellule au stade des deux granules superposés, donc au stade des FIG. **4** et **5**. Les deux granules sont très noirs, et à première vue on est tenté de croire qu'à eux seuls ils représentent tout ce qui a été formé de l'endostyle naissant. Cependant à un examen attentif (ces images sont excessivement difficiles), on reconnaît dans l'axe de l'hyaloplaste une ligne pâle, qui part du corpuscule intérieur et se continue jusque tout près du noyau. Cette ligne, dans la cel-

lule en question, m'a paru d'abord moniliforme, comme les endostyles plus avancés. Mais un examen plus approfondi a montré au-dessus d'elle l'image des spires de l'exolemme naissant, comme le montre le dessin : et alors, en mettant très soigneusement au point, la ligne elle-même a revêtu une apparence lisse. Il est certain que pour cette cellule l'aspect moniliforme est dû, au moins pour la majeure partie, à la fusion des images de l'endostyle et de l'exospire; et cela est certain également pour de nombreux cas semblables que j'ai observés.

Les FIG. **6**, **25**, **26**, **27**, **54**, présentent une autre particularité, qui est peut-être de nature à nous donner un renseignement utile. Dans la FIG. **6**, on voit la ligne pâle, arrivée près du noyau, se bifurquer en deux contours en forme de **V**, situés *en dedans* des contours de l'hyaloplaste, qui conduisent jusqu'au noyau. L'espace qu'ils limitent est apparemment vide. De même pour les endostyles des FIG. **25**, **26** et **27**; seulement dans ces deux dernières, l'espace limité par les contours en **V** ne paraît pas entièrement vide : il est pâle, mais pas tout à fait hyalin, faisant plutôt l'impression d'être rempli par une matière pulvérulente très fine. Qu'en conclure, sinon que l'hyaloplaste est dès l'abord *creux*, et que c'est dans sa lumière axiale que se dépose la matière qui doit former l'endostyle? Et les contours de cette lumière ne doivent-ils pas représenter la première ébauche du futur *endolemme?* La comparaison de ces figures avec la FIG. **54**, sur laquelle nous revenons plus tard, paraît le prouver.

En présence de ces faits, il doit sembler inexact de dire que le corpuscule polaire intérieur *croît* vers le noyau pour former l'endostyle : celui-ci paraît plutôt se former par un dépôt de substance sidérophile dans l'axe creux de l'hyaloplaste, indépendamment du corpuscule qui le termine.

Pendant que ces phénomènes se passent à l'intérieur de l'hyaloplaste pour former l'endostyle, ses couches extérieures commencent à se modifier pour former l'*exolemme*. Toutes les images qui se rapportent aux premiers stades du développement de cet organe sont extrêmement difficiles. Cependant, à force de soins et de patience, on peut en recueillir de probantes en nombre suffisant pour ne laisser aucun doute concernant la nature essentielle du processus par lequel il se forme.

Dans l'immense majorité des cas, l'hyaloplaste se présente pendant les premiers stades (comme il le fait du reste pendant les stades ultérieurs, même les plus avancés) comme une languette hyaline à contours lisses ou vagues, sans indication de structure, FIG. **5**, **7**, **8**, **16**, **21**, **9** et d'autres. Cependant,

à l'aide de méthodes optiques correctes, on arrive par ci par là à lui en reconnaître une dès les premiers moments de l'existence de la spermatide.

La FIG. **1** représente une cellule qui vient de reconstituer son noyau. Les rayons du fuseau sont encore visibles, et l'anneau polaire n'a pas encore disparu. Au milieu du faisceau de rayons fusoriaux, on reconnaît l'hyaloplaste sous forme d'un cône étroit, s'étendant de l'épine apicale jusqu'au noyau. Or, ce cône n'est pas limité par un contour uni, mais par une rangée de points plus foncés du côté extérieur que vers l'intérieur, non sphériques, mais plutôt quadrilatères, c'est-à-dire exactement comme ils le seraient s'ils étaient les coupes optiques d'une bande transversale entourant l'hyaloplaste.

De même pour la FIG. **2**, qui représente un stade légèrement plus avancé, le Nebenkern étant formé. On remarquera qu'ici on a pu non seulement reconnaître les points limitant l'hyaloplaste en coupe optique, mais qu'on a pu les suivre, sous forme de bandes fines, sur une certaine distance, à la surface même de l'hyaloplaste. On remarquera également qu'on a pu les voir, non seulement entre le Nebenkern et le noyau, mais même à l'intérieur du Nebenkern.

La même description pourrait servir pour les FIG. **3** et **4**, si ce n'est que dans cette dernière les points n'ont pas été vus à l'intérieur du Nebenkern.

La FIG. **6** est au même stade de développement, mais présente cet avantage que l'hyaloplaste est sorti du Nebenkern, ce qui permet de le voir à nu dans toute sa longueur jusqu'au noyau. Ici, on a pu non seulement reconnaître les points qui le bordent, mais les voir nettement se continuer en de fines bandes obliques, qui le traversent selon toute sa largeur pour se réunir à leurs vis-à-vis, c'est-à-dire qu'on a pu voir qu'une bande spirale serpente à la surface de l'hyaloplaste.

Et il n'y a pas que la bande seule qui soit visible ici; ses spires sont réunies entr'elles, de chaque côté, par une ligne de contour, expression évidente d'une fine membrane. Je pense qu'il n'est plus possible d'hésiter : nous sommes ici en présence d'un exolemme formel, déjà muni de son exospire.

La FIG. **27**, d'un stade un peu plus avancé, ne diffère des précédentes que par la plus grande régularité des tours de l'exospire. Et en général, comme on peut le constater en regardant les planches, il n'y a entre les stades premiers de l'exospire et ceux de spermatozoïde achevé ou très avancé d'autre différence que celle-ci, que dans ces derniers la bande spiralée est devenue plus large et plus forte (comparez les FIG. **6**, *a*, et **82**, qui sont au même grossissement).

On reconnaîtra également, en comparant les figures des divers stades, que l'exospire ne devient pas beaucoup plus facile à voir en raison du développement de la spermatide. Ce qui n'est nullement étonnant, car, comme cela a été expliqué dans *La structure du spermatozoïde*, cet organe est si difficile à mettre en évidence, même dans les spermatozoïdes presque achevés (ce qui est le stade le plus favorable), que ce n'est que dans des cas exceptionnels qu'on arrive à le bien voir.

Les FIG. **54** et **54** *a* méritent une attention particulière. Dans la cellule de laquelle elles sont tirées, l'exolemme est très fortement developpé, et les tours de l'exospire se montrent comme des bandes passant d'un bord de l'exolemme à l'autre. Mais ce n'est pas tout. En dedans de l'exolemme, on aperçoit nettement le contour d'une deuxième gaîne autour de l'endostyle. Cette gaîne a la forme d'un cône, dont la base serait appliquée contre la cavité cotyloïde du noyau et dont la pointe se perdrait sur l'endostyle à une distance de 5 ou 9 microns du noyau. La base est d'une largeur égale à celle que doit avoir le plateau antérieur de l'endostyle, qui n'est pas visible à travers le noyau fortement coloré. Il n'y a pas de doute que cette gaîne conique n'est autre chose que l'endolemme, formation qui, d'après les FIG. **6**, **25**, **26**, **27**, est vraisemblablement déjà ébauchée à un stade bien antérieur, comme nous l'avons vu plus haut. Cette gaine intérieure est représentée dans les FIG. **54** et **54** *a* par un simple contour. Mais en réalité on y voit quelque chose de plus. En mettant bien au point sur le contour, on aperçoit, à n'en pas douter, l'image d'une fibre en spirale, semblable en tous points à l'exospire, si ce n'est qu'elle est plus fine. On ne peut se défendre de l'impression que les deux gaînes de l'endostyle sont également munies d'une bande en spirale, et qu'à côté de l'exospire il y aurait un *endospire*.

J'ai rencontré plusieurs fois des contours de gaîne intérieure, et même une fois l'image de spirale, dans une cellule de ce stade. Mais je n'ai pas osé introduire la spirale dans le dessin, par crainte d'illusion. Car il semble rigoureusement possible que les spires vues sur l'endolemme ne soient que celles de l'exospire, collées par accident sur l'endolemme, ou s'y superposant optiquement.

L'étude attentive d'images comme celles qui ont été décrites ne doit pas laisser de doute concernant le mécanisme par lequel l'exolemme et l'exospire se forment. Il parait évident qu'ils se forment par une condensation de la couche extérieure de l'hyaloplaste. Il serait donc tout à fait superflu d'invoquer l'agencement de « cytomicrosomes » ou « mitochondries », qui

s'ordonneraient en spirale pour former la bande. Ce ne serait pas nécessaire et ce serait contraire aux faits d'observation. Je connais très bien les « mitochondries » des spermatides, et jamais je ne les ai vu faire mine de s'agencer ensemble pour former un organe quelconque du spermatozoïde. D'ailleurs, comme nous l'avons vu, l'exospire se forme déjà au sein du Nebenkern : et là il n'y a pas de mitochondries.

Une dernière remarque avant de quitter ce sujet. On voit, FIG. **3**, **4**, **16**, **27**, **28** et d'autres, que l'hyaloplaste ne se dirige nullement toujours droit sur le noyau ; il semble au contraire le plus souvent l'attaquer obliquement, ou même se diriger à côté de lui et se recourber avant d'y entrer. Nous reviendrons sur ce fait plus tard à propos de la rotation du noyau.

CHAPITRE IV.

Le corpuscule antipolaire.

En même temps que l'ébauche de l'endostyle s'accuse, à partir du corpuscule polaire, il se développe ailleurs dans la cellule un corpuscule remarquable, que j'appellerai le *corpuscule antipolaire*. Il fait son apparition dès les premiers moments, de l'existence de la spermatide, témoins les FIG. **1** et **2** (en *c. a.*). On le rencontre n'importe où dans la cellule, excepté dans le noyau et dans les régions occupées par le Nebenkern et l'hyaloplaste polaire. On le trouve pourtant plutôt dans les régions équatoriales qu'ailleurs. Il est beaucoup plus gros que le corpuscule polaire, car il mesure dans les plus petits exemplaires que j'ai pu reconnaître avec certitude environ 0,5 micron en diamètre (tandis que l'épine apicale n'en a pas plus de 0,25). Il paraît varier beaucoup de taille, car on en trouve de 1 micron de diamètre tout aussi souvent que de 0,5 : il y en a même qui mesurent plus de 1 micron. Il se colore par l'hématoxyline au fer au même titre que l'épine apicale.

Il n'est pas toujours possible de distinguer le corpuscule antipolaire des diverses granulations sidérophiles sans importance qui se rencontrent dans les spermatides. Quand on peut le distinguer, on trouve toujours qu'il diffère d'eux par les deux caractères que voici :

a) Il a une forme particulière ;

b) Il est relié au noyau par l'entremise d'un corps clair, ou si l'on veut une plage claire, semblable en tous points à l'hyaloplaste polaire.

La FIG. 1, *c. a.*, donne une assez bonne idée du corpuscule antipolaire tel qu'il se présente pendant les tout premiers stades. Il se montre sous la forme d'un petit corps vaguement conique, coiffant une petite papille claire qui s'adosse au noyau. Il paraît un peu plus foncé à la base que vers la pointe : mais on ne lui reconnaît pas d'autre différentiation.

Mais il s'en manifeste déjà dans les stades qui suivent immédiatement celui-ci. En regardant de près le corpuscule antipolaire, *c. a.*, de la FIG. 2 (stade de la spermatide qui ne diffère du précédent qu'en ce que les rayons du fuseau se sont agglomérés en Nebenkern), on verra qu'il se présente comme un petit anneau épais, duquel sortent deux très petites baguettes, l'une en haut, l'autre en bas. Ces indications de structure ne sont pas très évidentes dans ce corpuscule; ils le sont encore moins dans celui de la FIG. 11, qui appartient à une cellule voisine de la même colonie. Mais dans cette même colonie, on en trouve beaucoup d'autres dans lesquels les détails de structure sont beaucoup plus visibles. J'en ai dessiné cinq dans la FIG. 10, l'un d'eux, *a*, au même grossissement que la FIG. 2, soit 1500 diamètres, les autres au double.

Le corpuscule *a* m'a paru avoir la forme d'une poire à injection portant un anneau de ceinture plus foncé, et émettant un prolongement très fin du côté du noyau. Mais je n'ai pas pu voir d'autres détails. Le corpuscule *b* paraît montrer avec certitude, d'abord, un élément qui peut être un simple anneau, mais qui peut aussi être comme un entonnoir à rebord épaissi, se prolongeant en une collerette visible en coupe optique à droite et à gauche; puis en haut une petite baguette à bout carré, et en bas une petite baguette à bout pointu, les deux sortant de l'anneau (ou de l'entonnoir). Ce corpuscule est orienté de la même manière par rapport à son noyau que le corpuscule *a*; en conséquence, la baguette à bout carré est distale, et la baguette pointue proximale, de sorte qu'elle correspond en position avec le prolongement vers le noyau du corpuscule *a*. Notez que l'une et l'autre de ces baguettes sont passablement plus foncées que l'anneau.

Le corpuscule *d* est assez semblable à *b*. Seulement, il paraît hors de doute qu'il montre un entonnoir et non un simple anneau. Cet entonnoir se prolonge vers le noyau par un étirement pâle comme lui, finissant en pointe. La baguette à bout carré est représentée par une baguette claviforme beaucoup plus foncée que l'entonnoir.

Le corpuscule *c* diffère du précédent en ce qu'il nous montre, au lieu d'un contour infundibuliforme, une barre droite, projection optique d'un anneau simple ou d'un disque plat; et en ce que le prolongement dirigé vers le noyau est beaucoup plus long que dans les figures précédentes, de sorte qu'il est un véritable filament. Il est courbé. Il est plus pâle que l'anneau et la baguette distale, et devient toujours plus pâle à mesure qu'il s'éloigne de l'anneau.

Le corpuscule *e* montre également un contour d'anneau ou de disque; l'élément correspondant à la baguette distale des autres figures (l'orientation est la même que pour *d*) paraît pyramidal; et du côté du noyau on observe deux prolongements au lieu d'un seul. L'un d'eux est à situation médiane par rapport à l'anneau, l'autre à situation latérale. Celui-ci est plus long que l'autre et plus pâle, mais paraît s'insérer sur le bord de l'anneau au moyen d'un petit renflement très foncé.

Ne dirait-on pas en voyant ces images que, déjà, nous sommes ici en présence d'une ébauche du *plateau antérieur du cylindre-axe;* que l'anneau ou entonnoir est le plateau lui-même; que la baguette distale, à bout carré ou claviforme, est le prolongement odontoïde; et que la baguette ou prolongement ou filament qui se dirige vers le noyau est une ébauche de l'extrémité antérieure de l'endostyle primaire? Même dans le corpuscule *e*, n'aurions-nous pas devant nous l'ébauche de l'endostyle accessoire aussi bien que celle de l'endostyle primaire?

Pendant tous les stades ultérieurs, les images du corpuscule antipolaire ne s'écartent guère du schéma donné par celles de la FIG. **10**. On le trouve tantôt plus grand, tantôt plus petit. Il ne paraît pas croître avec la spermatide, mais plutôt diminuer de taille, vraisemblablement par une condensation de sa substance. Il nous suffira de passer rapidement en revue les dessins détaillés qu'il m'a paru utile d'en faire.

La FIG. **6** n'offre rien de remarquable. Mais le corpuscule dessiné en rapport avec le noyau de la FIG. **12** me paraît assez intéressant. L'image qu'il donne fait à première vue absolument l'impression d'être celle d'un globule, relativement pâle, de 1 micron de diamètre, porté sur un anneau courbé (ou calotte perforée) plus foncé, et ayant 1,5 micron de largeur. Si cela était, le corpuscule ressemblerait d'une manière frappante à l'élément découvert par HERMANN [1] dans la spermatide de la salamandre, et décrit

[1] HERMANN : Archiv f. micr. Anat., Bd XXXIV et Bd L, 1897, p. 295.

par lui comme consistant en « un corpuscule rond se colorant en rouge par la safranine, et à côté un anneau se colorant en violet, et ayant une surface courbe ». Mais je n'ai pas pu mettre hors de doute que le globule supposé de la FIG. 12 en soit réellement un; il se peut qu'il ne soit que l'entonnoir des corpuscules *a* et *d* de la FIG. 10. Et je n'ai pas pu être certain non plus que le supposé anneau courbe en soit réellement un, car je n'ai pas pu y distinguer l'image de la moitié supérieure de cet anneau. De sorte qu'il demeure possible que les deux barres qui dépendent du globule ne soient que les deux « baguettes » des figures précédentes, l'une d'elles étant déplacée, je ne sais comment.

La FIG. 12 montre une autre particularité intéressante. Du centre du globule (ou entonnoir) part une rangée de petits granules très nets, qui va en ligne droite jusqu'au-delà du contour du noyau, et, à ce que je crois, entre dans lui. Serait-ce que, comme pour son extrémité polaire, l'endostyle commence à se déposer à son extrémité antipolaire sous forme de granules qui se consolident ensuite?

L'autre corpuscule, *b*, de la FIG. 12 est décrit dans mes notes comme consistant en « un globule ou entonnoir, avec un prolongement odontoïde ». Il provient d'une cellule voisine de la même colonie.

La FIG. 14 montre des corpuscules appartenant à une colonie encore moins avancée, à savoir au stade de la FIG. 3. Ils sont tous au grossissement de 1500, d'où l'on peut juger de la différence de taille qui règne entre ces éléments au même stade de développement. Le corpuscule *a* paraît consister en un globule porté sur un anneau courbe; cela est tout à fait certain pour *c*, ce qui viendrait à l'appui de la première interprétation que nous avons donnée de la FIG. 12. La figure *b* montre un globule muni de deux prolongements du même côté, ce qui correspond à la seconde possibilité que nous avons admise pour la FIG. 12. *d* montre un entonnoir garni en avant d'un anneau plat qui le déborde, et portant un prolongement proximal. *f* montre un entonnoir, perforé apparemment par une seule baguette. *e* est incompréhensible.

Avec la FIG. 16, nous arrivons à un stade un peu plus avancé de la cellule. Le corpuscule antipolaire y est composé d'un entonnoir avec les deux baguettes. On notera que le rebord de l'entonnoir paraît se prolonger en une collerette très fine qui se réunit à l'exolemme déjà formé autour du corpuscule (comme nous pouvons le dire par anticipation).

Cette même particularité se retrouve dans la FIG. 9. Ici l'entonnoir

paraît beaucoup plus long, son fond paraît consister en un granule plus foncé que ses parois, et un filament recourbé paraît sortir de ce granule et se rendre au noyau.

La FIG. **15** fait voir deux corpuscules appartenant à une spermatide « géante » de la même colonie que la cellule de la FIG. **9**. Ils sont gros, mesurant plus de 1 micron en diamètre. Celui d'en haut présente la forme d'entonnoir, avec la baguette distale très accusée, beaucoup plus foncée que l'entonnoir. Le corpuscule inférieur montre, au lieu d'un entonnoir, une poire entourée d'un anneau de ceinture plat, très fin. Il a un prolongement proximal, mais point de baguette distale.

La FIG. **13** montre neuf corpuscules pris dans d'autres cellules de la même colonie. On a donné à tous la même orientation, avec le prolongement odontoïde en bas, c'est-à-dire à l'opposé du noyau pour chacun d'eux. Les trois premiers ne demanderont pas d'explication spéciale, c'est l'image que nous connaissons d'entonnoir ou anneau avec une baguette distale qui en sort. La figure *d* nous répète l'image de poire avec un anneau de ceinture que nous avons trouvée dans le corpuscule inférieur de la FIG. **15**; seulement à la base de la poire, on voit un granule plus foncé, comme dans la FIG. **9**. On retrouve une disposition semblable dans le corpuscule *f*. Celui-ci montre le prolongement odontoïde sortant à gauche, obliquement; ce qui est également le cas pour *g* et *h*. Dans *e*, on voit un anneau se présentant en profil; le prolongement odontoïde, très petit, se voit en bas. *h* et *i* sont des variantes de *b*.

Les FIG. **31** et **38** nous montrent des détails tout à fait semblables, dans des cellules beaucoup plus avancées.

Il semble que les images que nous avons ainsi passées en revue justifient la conclusion déjà suggérée que le corpuscule antipolaire est l'ébauche du plateau antérieur (ou cervical) de l'endostyle. Nous allons maintenant examiner par quel mécanisme cette ébauche peut être mise en rapport avec celle de la portion polaire (ou caudale) de l'endostyle.

Chapitre V.

La portion antipolaire de l'hyaloplaste.

Il a été dit dans le chapitre précédent qu'un des deux caractères distinctifs du corpuscule antipolaire est d'être en rapport avec le noyau par l'entremise d'un corps clair, ou, si l'on veut, une plage claire, semblable à l'hyaloplaste polaire. Nous allons maintenant voir qu'il y a des motifs pour admettre que ce corps n'est que la continuation, la portion antipolaire, de l'hyaloplaste polaire.

De même que l'hyaloplaste polaire, il se présente dans la majorité des cas, et cela pendant tous les stades, comme une languette hyaline à contours lisses ou vagues, sans indication de structure, fig. **3**, **9**, **32**, **31**, **38**. Cependant, à l'aide de moyens optiques suffisants, on arrive par ci par là à lui en reconnaître une dès les premiers moments de l'existence de la spermatide. Pour décrire cette structure, il suffira presque de répéter ce qui a été dit de l'hyaloplaste polaire, Chap. III.

La fig. **1** représente une spermatide aussitôt après la reconstitution du noyau. On voit le corpuscule antipolaire situé au sommet d'une petite papille claire qui le met en rapport avec le noyau. Or, cette papille n'est pas bordée par un contour uni, mais par une rangée, de chaque côté, de points ou traits exactement semblables à ceux qui bordent l'hyaloplaste polaire de la même cellule et que nous avons interprétés comme étant l'expression optique des tours de l'exospire naissant. La fig. **2** nous offre presque un cas identique, si ce n'est qu'ici l'image est plus probante, les points marginaux se présentant comme des bandes formelles. La même apparence s'observe dans les fig. **10**, **16**, **28**, **29**, **30**, **37**, **71**, **73**. C'est évidemment la même structure que celle de l'hyaloplaste polaire.

Mais notons encore deux points de ressemblance. Dans les deux cas, les spires ont le même sens de torsion, elles montent de gauche à droite. Et lorsque le corpuscule est situé loin du noyau, on constate que l'hyaloplaste ne se rend pas en ligne droite à celui-ci, mais suit volontiers un trajet plus ou moins sinueux, se recourbant brusquement avant d'y entrer, fig. **10**, **16**, **28**, **32**.

Nous avons dit qu'il relie le corpuscule antipolaire au noyau, et même qu'il y entre. Par quelle région du noyau y pénètre-t-il en ce cas? Dans les

noyaux jeunes, n'importe où ; mais dans les noyaux au stade de Saturne, c'est, si je ne me trompe, par une des extrémités de la fente qui loge l'anneau saturnien, l'hyaloplaste polaire y entrant par l'autre. De sorte que l'hyaloplaste polaire et l'hyaloplaste antipolaire seraient reliés par l'anneau saturnien, qui lui-même ne serait autre chose que la portion intranucléaire de l'hyaloplaste.

Les FIG. **27**, **28**, **29**, **30**, **31**, **32**, **37**, **38** font voir, d'une façon grossière, il est vrai (ces images sont presqu'impossibles à dessiner), les apparences qui m'ont amené à admettre cette manière de voir.

Prenons d'abord des cas simples. Dans les FIG. **38**, **37**, **31**, **30**, **29**, on voit l'hyaloplaste antipolaire se rendre directement à l'un des bouts de la fente saturnienne. Dans la FIG. **32**, il le fait avec cette différence que pour y entrer il est obligé de faire un coude très prononcé. Dans la FIG. **29**, l'ampoule claire qui marque l'extrémité opposée de cette fente montre à sa périphérie de petits points angulaires, semblables aux coupes optiques des tours de l'exospire que nous avons déjà appris à connaître. La même apparence s'observe sur l'ampoule à droite du noyau de la FIG. **27**, et se répète dans l'ampoule de gauche de cette figure. Dans ce dernier cas, il est évident qu'elle est due à la projection de l'exolemme polaire, qui en cet endroit se recourbe brusquement pour entrer dans le noyau. Qu'en conclure, sinon que, l'« anneau » saturnien étant strié à ses deux extrémités, il doit l'être également dans la portion intermédiaire?

En tout cas, ces images paraissent montrer que l'hyaloplaste antipolaire constitue l'une des extrémités de l'« anneau » de la figure de Saturne. Quelles sont maintenant les images qui montreraient que l'hyaloplaste polaire en constitue l'autre extrémité?

D'abord la FIG. **27**. Cette image paraît probante et ne demande d'explication qu'en ce qui concerne le coude formé par l'hyaloplaste avant d'entrer dans le noyau, formation qui répète celle de l'hyaloplaste antipolaire de la FIG. **32**. Nous reviendrons sur ce point à propos de la rotation du noyau.

Ensuite la FIG. **37**. Ici l'hyaloplaste polaire se rend au point du noyau qui est opposé au point d'entrée de l'hyaloplaste antipolaire, mais le coude qu'il doit former pour y entrer n'est pas visible, parce qu'il est situé en dessous du noyau. L'anneau saturnien est indiqué dans cette figure par un équateur clair.

Puis la FIG. **28**. Cette figure montre la fente saturnienne en profil, c'est-à-dire par le bout. Le dessin est destiné à montrer comment l'hyalo-

plaste polaire, fortement gonflé, se rend à l'extrémité de la fente qui est au-dessous du noyau. De là il doit monter en ligne droite vers l'observateur, pour sortir par l'extrémité supérieure de la fente sous forme d'hyaloplaste antipolaire. A sa sortie, il se coude, plonge de nouveau vers un plan inférieur, puis se coude de nouveau et remonte presque verticalement jusqu'au corpuscule antipolaire, qui ici, par exception, est situé à la surface de la cellule. C'est là une disposition assurément fort compliquée, mais, je crois, absolument typique.

Dans la FIG. **25**, l'hyaloplaste est dans la même ligne que la bande claire qui indique le sillon saturnien, et je crois qu'il y entre tout droit. Dans la FIG. **31**, on voit qu'il se dirige droit sur l'extrémité de ce sillon, qui est opposée à celle qui est en rapport avec l'hyaloplaste antipolaire; mais on ne l'y voit pas entrer, parce qu'il plonge sous le noyau avant d'y arriver. Il en est de même pour la FIG. **26**. On remarquera comment ici l'hyaloplaste, pour se rendre au point d'entrée situé en dessous du noyau sur sa marge gauche, change brusquement de direction à partir de la portion déjà formée de l'endostyle. La FIG. **23** est dans le même cas, l'hyaloplaste entre à gauche, en se coudant sous le noyau.

Cette dernière figure mène insensiblement aux FIG. **30** et **24**. Pour la FIG. **30**, il faut nécessairement admettre que l'hyaloplaste, quoique invisible autour de l'endostyle, entre à gauche. Il en est de même pour les FIG. **36** et **29**.

On dira peut-être que ce sont là des explications bien tortueuses. Soit! Mais c'est que les figures que nous étudions le sont elles-mêmes! Car, ou je me trompe fort, ou ces images ne peuvent s'expliquer qu'en admettant que dans les premiers stades de la spermatide le noyau se met à exécuter un *mouvement de rotation* plus ou moins régulier autour d'un axe situé dans un plan transversal à l'axe de la cellule, c'est-à-dire à la ligne qui relie le corpuscule apical avec la base de la cellule, et que par cette rotation il *enroule l'hyaloplaste autour de lui*. Un pareil enroulement suffit sans autre à expliquer toute la complexité de ces images.

Que cette rotation existe dans des spermatides seulement un peu plus avancées que celles que nous avons étudiées jusqu'ici, cela ne fait pas l'ombre d'un doute. On est frappé, à première vue, en considérant des spermatides de ce stade, de voir combien d'entre elles montrent des noyaux *anatropes* (on sait que les botanistes emploient ce terme pour désigner les ovules qui ne sont pas portés droit sur leur funicule, mais réfléchis sur lui). En d'au-

tres termes, ces noyaux ne sont pas portés droit sur l'endostyle, mais réfléchis sur lui, FIG. **37**, **38**, **46**, **39**, **40**, **45**. Ces images montrent une flexion de 90 à 180 degrés; mais j'en ai recueilli beaucoup d'autres où la flexion est encore plus prononcée, au point d'être devenue un véritable enroulement. Les FIG. **41**, **42**, **43**, **44** en montrent. Elles s'expliquent d'elles-mêmes, si ce n'est qu'il faut ajouter que le point d'entrée de l'endostyle dans le noyau n'a pas pu être déterminé avec exactitude; il est certain qu'il est situé au-dessous du noyau, de sorte que l'endostyle doit avoir fait à peu près le tour complet du noyau avant d'y entrer. Il est étroitement appliqué à la surface du noyau, ce qui fait qu'à un examen superficiel on n'en voit que le bout qui dépasse le contour du noyau. C'est ainsi que pour la FIG. **41** j'ai commencé par croire que l'endostyle n'avait qu'un micron de longueur!

Ces images sont très difficiles. On n'arrive à pouvoir suivre le trajet de l'endostyle autour du noyau que grâce au fait qu'il est fortement coloré. On comprend donc facilement qu'il doit être à peu près impossible de suivre l'enroulement autour du noyau d'un corps incolore et transparent, tel que l'est l'hyaloplaste avant le dépôt de la matière colorable de l'endostyle en son axe. De sorte qu'il ne doit pas y avoir de difficulté à admettre que dans les stades précédents, les stades de Saturne et même les stades plus jeunes, où l'hyaloplaste est incolorable sur la plus grande partie de sa longueur, il est enroulé plus ou moins autour du noyau de la même façon, alors même qu'on ne peut pas positivement voir qu'il en est ainsi. Si, par exemple, dans les FIG. **40** et **45**, l'endostyle n'était pas coloré sur toute sa longueur, ne croirait-on pas qu'il entre dans le noyau par le pôle inférieur au lieu du pôle supérieur?

On comprend sans peine qu'un tel enroulement suffit sans autre à expliquer la difficulté qu'on éprouve à établir les rapports exacts de l'hyaloplaste avec le noyau pendant le stade de Saturne et les stades précédents.

A partir du stade auquel nous sommes arrivé maintenant, c'est-à-dire lorsque l'endostyle a atteint une longueur d'une quinzaine de microns, FIG. **37** à **47**, l'« anneau » saturnien disparait, et la fente se referme graduellement. Les images qui se rapportent à ce stade sont tellement difficiles à interpréter que je ne puis donner que quelques indications sur ce qui se passe.

Il semblerait que l'anneau que nous avons été amené à interpréter comme étant la portion intra-nucléaire de l'hyaloplaste, disparait parce

qu'il chemine à travers le noyau pour sortir du côté polaire; et qu'en ce faisant il tire après lui l'hyaloplaste antipolaire avec le corpuscule antipolaire, jusqu'à ce que celui-ci soit venu se loger à la base du noyau, où il devient le plateau antérieur de l'endostyle.

Dans la FIG. **36**, l'hyaloplaste antipolaire semble s'être déjà retiré dans le noyau, au point que son corpuscule est sur le point d'entrer dans la fente saturnienne.

Dans la FIG. **46**, le corpuscule paraît être entré profondément dans la fente. Dans les FIG. **51**, **47**, **49**, **48**, il paraît être arrivé à la base du noyau et s'y montrer sous la forme du plateau de l'endostyle, — l'axe de l'hyaloplaste ayant achevé de se convertir en endostyle pendant le passage du corpuscule à travers le noyau. Et cela peut également être le cas pour les FIG. **45** et **40**.

Ce passage effectué, il semblerait que la fente reste béante pendant un temps, FIG. **45**, **40**, puis se comble graduellement, FIG. **47**. Puis le noyau, jusque là anatrope, se redresse, FIG. **47** et suivantes.

Un mot d'explication encore concernant la manière d'être de la portion intranucléaire de l'hyaloplaste. J'admets que l'hyaloplaste traverse le noyau; mais il n'est pas nécessaire d'admettre qu'il le fasse toujours selon une ligne droite, ou selon une courbe régulière. Certaines apparences indiquent qu'il peut être coudé, même fortement coudé, en dedans du noyau. Par exemple, dans la FIG. **38**, il semblerait qu'il entre dans le noyau à droite, le traverse en ligne droite, détermine une légère saillie au point opposé à son point d'entrée, puis se réfléchit brusquement pour venir sortir à gauche, là où l'endostyle aboutit au noyau. De même pour la FIG. **46**.

CHAPITRE VI.

Stades ultérieurs

Avec les derniers stades que nous avons considérés dans le chapitre précédent, l'hyaloplaste a revêtu presque tous les caractères du corps définitif du spermatozoïde. Il ne lui reste guère plus qu'à croître et se développer en longueur en raison du développement en longueur de la cellule. C'est à ce moment que la cellule passe de la forme sphérique ou piriforme à celles de sac allongé et de cylindre, FIG. **78**, **80**, **81**. Nous avons reproduit,

FIG. **82**, une étude, très soigneusement détaillée, d'une portion de spermatide à un stade un peu plus avancé que la FIG. **81**. Cette étude a été faite au grossissement de 3000, ce qui permettra de la comparer directement avec l'hyaloplaste polaire représenté FIG. **6**, en *a*. On constatera que l'exospire est devenu beaucoup plus puissant, mais pas l'endostyle, qui ne s'est développé qu'en longueur. En effet, l'endostyle de la FIG. **82** mesure, d'après mes notes, en largeur environ 0,2 micron, en tout cas pas 0,25, c'est-à-dire pas plus que l'endostyle naissant de la FIG. **6**; même, vers le bout, plutôt moins. Et pourtant la cellule à laquelle il appartient a atteint une longueur d'environ 140 microns.

Cette figure montre en outre (ce que ne montraient pas les figures très similaires 6 et 7 du mémoire *La structure du spermatozoïde*), que l'exolemme se forme tout entier et *complétement* dans le cytoplasme, et qu'après qu'il est formé le cytoplasme disparaît, le laissant à nu. Le cytoplasme disparaît graduellement d'avant en arrière. Dans la cellule de la FIG. **82**, le cytoplasme s'est retiré sur une longueur de 30 à 40 microns à partir de la tête : dans la figure, on voit en haut, en avant de *cy*, *cy*, une longueur d'une dizaine de microns du cylindraxe ainsi mis à nu. Cette disparition du cytoplasme continue, à mesure que la cellule s'allonge, jusqu'à ce que tout le cytoplasme ait disparu, jusqu'au bouton caudal. De sorte que le corps du spermatozoïde achevé ne possède pas même le plus faible revêtement de cytoplasme : il n'a pas d'autre enveloppe que l'exolemme, qui, comme nous l'avons vu, est formé par l'hyaloplaste.

Il sera peut-être utile d'appeler l'attention du lecteur très particulièrement sur cette FIG. **82**. L'étude que nous avons faite des premiers stades du développement de l'exolemme, FIG. **1** à **38**, montre bien, si l'on admet l'exactitude des dessins, que cet organe se forme à l'intérieur de la cellule. Mais les images d'après lesquelles ces dessins ont été faits sont à tel point difficiles qu'il ne faut rien moins que les moyens optiques les plus perfectionnés et une manipulation absolument correcte pour les étudier. Le lecteur qui chercherait à s'en rendre compte par les moyens trop insuffisants employés habituellement dans les laboratoires n'arriverait pas même à les voir, et pourrait être tenté de les prendre pour un produit de la fantaisie. Il n'en est pas de même pour les images telles que celles de la FIG. **82**, qui sont tout à fait claires dans les cellules convenablement fixées et colorées. Et celui qui les a une fois vues ne saurait douter que l'enveloppe extérieure du cylindre-axe se forme *dans* le cytoplasme, et non par un simple enroulement du cytoplasme autour du cylindre-axe, comme on l'a cru.

Pendant ce stade, le cytoplasme a une tendance à se ramasser en des boules ou globules, comme des gouttes, le long du cylindre-axe. C'est un phénomène trop connu de la spermatogénèse pour qu'il soit nécessaire d'en donner des figures spéciales. La FIG. **65** en montre un exemple.

Le plateau antérieur du cylindre-axe ne paraît pas subir de modification, à moins qu'il ne grossisse quelque peu, après son établissement par la mise en position du corpuscule antipolaire à la base du noyau.

Il n'en est pas de même du corpuscule polaire ou apical, qui subit des modifications importantes qui le transforment en un *bouton caudal* remarquable.

Nous avons vu, Chapitre III, que l'épine apicale de l'hyaloplaste se transforme de très bonne heure en un granule discoïde ou infundibuliforme, muni d'un cil, FIG. **6** et suivantes. Ce granule reste sans grande modification, à ce que je crois, jusqu'au stade de la FIG. **38** ou **47**. A partir de ce moment, il prend la forme d'un godet très profond, foré d'un trou central, FIG. **48**, **60**, **61**, **62**, **63**, **64**, **78**, **80**, **81**, **83**. Lorsque la spermatide a revêtu la forme de sac allongé, on voit qu'il s'est formé, du côté proximal du godet, et tout près de lui, un petit anneau épais, qui embrasse l'endostyle, FIG. **78**, **61**, **80**, **81**. Cet anneau est épais, quelquefois assez plat, FIG. **60** et **61**, mais quelquefois aussi plus épais au centre que vers les bords, FIG. **78**, **80**, **81**; quelquefois même, il est plus long que large et apparaît comme un renflement fusiforme de l'endostyle, FIG. **62**, en *a*. Je n'ai pas pu savoir par quel procédé il se forme.

Cet anneau satellite demeure longtemps tout près du godet, le touchant presque, comme dans la FIG. **61**, qui est faite d'après des spermatides longues de 80 microns environ. Il est traversé par l'endostyle, qui continue, très atténué, jusqu'au godet qu'il traverse en s'effilant encore plus, pour sortir sous forme de cil, qui se renfle de nouveau sensiblement après sa sortie, FIG. **64**.

A mesure que la cellule s'allonge, l'anneau satellite s'éloigne du godet terminal, FIG. **60** et **63**, dans lesquelles il s'est montré éloigné de deux à trois microns. On rencontre des cas où il est encore plus éloigné, de quatre à cinq microns. Puis, au stade où la cellule a atteint une longueur de 140 à 150 microns, il disparaît entièrement, sans qu'il soit possible de dire ce qu'il est devenu. Dans la FIG. **83** (qui est au même stade que la FIG. **82**) il a déjà disparu. Il semblerait qu'il disparaît sur place, par résorption : car on peut souvent constater qu'à mesure qu'il s'éloigne du godet terminal, il devient informe et plus petit.

Dans la FIG. **63**, en *a* et *d*, on voit comme un indice d'un troisième corpuscule qui serait en train de se former entre les deux autres. Je n'ai pas saisi la signification de ce phénomène.

Dans cette figure, en *a* et *b*, on aperçoit l'exolemme qui paraît s'insérer sur les bords de l'anneau satellite; mais dans beaucoup d'autres cas, on le voit se continuer jusqu'au godet terminal, FIG. **83**.

Lorsque la cellule est arrivée au stade des FIG. **82** et **83**, c'est-à-dire lorsqu'elle a atteint une longueur de 150 microns environ, et que l'anneau satellite a disparu, le cil, qui jusque-là se montrait sortant du godet terminal, disparaît. Puis le godet terminal lui-même se transforme, je ne sais ni exactement quand, ni exactement comment, en le bouchon caudal, si dissemblable à lui, que l'on trouve dans le spermatozoïde adulte, et qui a été décrit dans le mémoire *La structure du spermatozoïde*.

J'ai toujours vu le cil immobile.

Il nous reste à parler de la transformation du noyau de la spermatide en la tête du spermatozoïde.

Lorsque la fente de la figure de Saturne s'est comblée, le noyau s'arrondit momentanément, FIG. **47**. Puis il s'invagine à sa base pour former l'ébauche de la cavité cotyloïde, FIG. **48**, **49**, **50**. Le noyau en cet état a la forme d'un champignon, dont le cylindre-axe figurerait le pilier. On peut distinguer en lui en ce moment un hémisphère plus foncé, qui est celui qui s'est invaginé, et un hémisphère plus clair, polaire. L'aspect plus foncé du premier est dû à ce que le réseau nucléinien y est plus serré, plus dense que dans l'hémisphère opposé. On reconnaît que les trabécules de ce réseau sont à ce moment orientées en des méridiens évidents, qui convergent vers le fond de la cavité cotyloïde, FIG. **47** et **50**. Il semble aussi qu'à ce moment ces trabécules commencent à se dégager en granules isolés, FIG. **50**. Ce sont les coupes optiques de ces trabécules méridiennes qui ont été décrites et figurées dans le temps [1] comme une «série de grains». On pourrait penser que cette distinction en hémisphère clair et hémisphère foncé produite par cette orientation n'est autre que celle décrite au Chapitre I comme se manifestant pendant la phase de Saturne; mais je ne suis pas certain de cela : il se pourrait bien que ce soit un phénomène indépendant.

Ensuite, l'hémisphère clair se soulève au pôle en une pointe, FIG. **49**, **52**,

---

[1] PRENANT : *Observations cytologiques sur les éléments séminaux des gastéropodes pulmonés*; La Cellule, t. IV, p 167.

de sorte que le noyau devient cordiforme [1]. Alors le réseau nucléinien disparaît comme tel, FIG. **53**, **54**, ses trabécules (ou les granules isolés qui en proviennent) se fusionnant en une masse parfaitement homogène, FIG. **53**, **55**, qui se porte à la surface du noyau, pour y former une coque dense, réfringente et chromatophile, entourant une substance amorphe, peu réfringente et achromatique, qui du côté du pôle déborde la coque sous forme d'un cône pâle, FIG. **52**, **53**, **54**, **56**. C'est-à-dire que le noyau s'est différentié ainsi en exosome et endosome.

Après la différentiation en exosome et endosome, le noyau change très rapidement de forme. Il s'allonge du double au triple, FIG. **57**, et en même temps se rétrécit latéralement, passant ainsi de l'état cordiforme à l'état subulé qui caractérise la tête adulte. La cupule d'invagination se rétrécit par ce fait, et de sa forme primitive de godet peu profond et relativement large, FIG. **48**, passe à celle de la cavité cotyloïde profonde et étroite de la tête achevée, FIG. **57**, **58**, **59**.

La tête a alors acquis sa forme générale définitive. C'est alors que les côtes en spirale se montrent sur l'exosome, FIG. **57**, et les diverses figures du mémoire *La structure du spermatozoïde*. Il ne m'a pas été possible de savoir par quel procédé elles se forment.

Tant que le noyau n'a pas acquis la forme subulée de la tête adulte, le plateau antérieur du cylindre-axe, avec le prolongement odontoïde, demeure dans la masse nucléinienne, au sommet de la cupule d'invagination, FIG. **48**, **49**. Mais du moment que la tête a acquis sa forme définitive, le plateau se dégage de la masse nucléinienne, qui se moule en voûte au-dessus de lui pour former le toit de la cavité cotyloïde, FIG. **78**, **79**. Il n'est plus alors en rapport avec la tête que par les membranes cervicales décrites dans le mémoire *Sur la structure du spermatozoïde*. Par ce fait, le cou du spermatozoïde se trouve établi.

Ces phénomènes se passent alors que la cellule a atteint une longueur de 150 microns environ. Il ne lui reste plus qu'à croître, le cytoplasme disparaissant graduellement d'avant en arrière, comme il a été dit plus haut, pour revêtir la forme définitive du spermatozoïde.

---

[1] Les FIG. **41** à **44** peuvent paraître montrer que ce changement peut se produire même avant la disparition de la fente saturnienne; mais il se pourrait aussi que ces figures aient une autre signification et se rapportent aux noyaux à queue qui seront décrits au chapitre des anomalies.

Chapitre VII.

Quelques anomalies.

A. *Le cil caudal des spermatides.*

En parcourant les planches de ce travail, le lecteur aura peut-être été frappé de la grande variabilité des dimensions du cil caudal des spermatides. Tantôt, même dans les stades les plus jeunes, il est très long et robuste, comme dans les FIG. **4** et **5**. Tantôt, même dans des stades très avancés, il est, non seulement relativement, mais même absolument, plus petit et plus grêle, FIG. **25**, **28**, **39**, **41**, **60**, **63** et d'autres. Souvent, enfin, il paraît manquer entièrement, et cela dans des cellules où la conservation d'autres détails très délicats est pourtant excellente. Sommes-nous là en présence d'un accident de la préparation, ou bien le cil est-il en effet une formation très variable et inconstante?

La FIG. **65** donnera peut-être la clef de la réponse. Cette figure représente une cellule assez avancée, au stade de la FIG. **80** environ. La cellule mesurait 125 microns de la tête au bouton caudal (cette dimension a été raccourcie dans le dessin, parce que le carton pris pour le dessin s'est trouvé être beaucoup trop petit). Elle a été dessinée à l'état vivant ou du moins frais, c'est-à-dire après un séjour de trente minutes dans de la lymphe de l'escargot additionnée de rouge neutre (Neutralroth). Elle montre le phénomène du gonflement particulier qui se manifeste quelquefois lorsque les cellules sont préparées dans une lymphe qui ne leur convient pas. Elles se gorgent alors d'eau et se gonflent énormément, donnant ainsi des dissociations naturelles de leurs éléments qui sont souvent très instructives.

C'est ainsi que la tête, qui à l'état normal se présenterait comme celle de la FIG. **57**, se montre fortement distendue, et ayant son vertex invaginé dans l'exosome (comme dans les FIG. **58** et **59**, qui seront décrites plus tard). Le cytoplasme, très gonflé et devenu admirablement clair, laisse nettement voir le cylindre-axe, le Nebenkern à l'état d'un tas de petites vésicules, et des « cytomicrosomes » ou « mitochondries ». Le bouton caudal, qui, s'il n'était altéré, se présenterait comme ceux de la FIG. **61**, apparaît fort gonflé et a pris la forme d'un simple cône, sans montrer de distinction

entre le godet terminal et l'anneau satellite (ce même effet s'est produit dans la FIG. **64**).

Mais ce qui nous intéresse surtout ici, c'est l'état dans lequel se présente le cil caudal. Il se montre sous une forme si extraordinaire, si invraisemblable, que si je ne l'avais moi-même observée maintes et maintes fois, en contrôlant soigneusement toutes les sources possibles d'erreur d'observation ou d'interprétation, je ne saurais y ajouter foi. Voici ce qu'on voit dans ces cellules. Le cylindre-axe, très atténué, pénètre dans le bouton caudal et le traverse, FIG. **65** et **64**. Il en sort, FIG. **65**, en se renflant de nouveau, sous la forme d'un filament énorme, qui s'étale en de grandes boucles successives qui se suivent de manière à former une grande spirale très ouverte. La figure ne représente qu'une de ces boucles, le papier du dessin s'étant trouvé trop petit pour admettre les autres. Il y en avait au moins deux autres, et j'ai estimé que la longueur totale du filament était environ deux fois ce qui est représenté dans le dessin. J'ai toujours vu ces filaments parfaitement immobiles. Ils sont assez raides, c'est-à-dire qu'ils sont ou bien droits, FIG. **4** et **5**, ou bien ils décrivent des courbes qui ne montrent pas de sinuosités irrégulières, FIG. **65**. Celui qui est représenté dans le dessin devait avoir environ 250 microns de longueur. D'habitude, la production de ces cils exagérés se fait en même temps sur toutes les cellules d'une colonie. La colonie entière prend alors un aspect chevelu des plus étranges, on dirait d'une tête de Gorgone à chevelure faite de serpents. Et ces serpents, on les voit naître sous ses yeux. Car toujours, lorsqu'on observe des cellules qui viennent d'être mises dans la lymphe, on leur trouve des cils (si tant est qu'elles en montrent) qui sont tout à fait petits, comme ceux de la FIG. **61**, par exemple. Puis, à mesure que la cellule se gorge d'eau et se gonfle, le cil grandit — quelquefois lentement, de façon à n'atteindre en deux heures qu'une longueur de vingt ou trente microns, quelquefois avec une telle rapidité qu'au bout de vingt ou trente minutes il est devenu long de 100, 200 ou peut-être 300 microns (mes notes disent des cellules de la FIG. **64** : „filament apparemment infiniment long «).

Cette production étrange de cils exagérés ne s'observe que dans certaines préparations, et seulement dans des cellules gonflées par imbibition d'eau. Mais puisqu'on rencontre des cils de toutes les dimensions possibles, depuis ces productions monstrueuses jusqu'à des cils si petits qu'ils sont à peine visibles, il paraît naturel d'admettre que la grandeur d'un cil quel-

conque de spermatozoïde est liée à l'état momentané de turgescence de la cellule qui le porte. Le cil ne doit être autre chose que de la matière liquide sortant sous pression du pore du bouton caudal, et se solidifiant au contact du milieu extérieur.

Ce mode de formation d'un cil n'est pas sans exemple ailleurs. On se rappellera que, il y a bien longtemps déjà, le plus expérimenté des observateurs de la cellule vivante, LEYDIG [1] a montré que les cils, poils, cônes, boules terminales de diverses cellules sensorielles sont formés par de l'« hyaloplasme » sortant de la cellule et se solidifiant ensuite. Je me suis familiarisé avec les phénomènes décrits par lui et, étant convaincu de la parfaite exactitude de ses descriptions, je ne puis que me ranger à sa manière de voir, dont les spermatides de l'escargot paraissent fournir une démonstration éclatante.

B. *Les têtes à vertex invaginé.*

On se rappellera les deux figures d'une tête montrant le vertex invaginé en dedans de l'exosome données dans *La structure du spermatozoïde*, fig. 30 et 31. Ces figures étaient faites d'après une cellule fixée au formol picrique et colorée à l'hématoxyline ferrique, mode de préparation par laquelle les têtes deviennent d'un noir opaque, qui ne permet pas d'observer des détails à l'intérieur d'elles. Les FIG. **58**, **59**, ici, montrent au contraire des têtes préparées par l'hématoxyline ferrique après fixation par le mélange picro-osmique de O. VOM RATH, procédé qui communique à l'exosome seulement une coloration transparente, qui permet d'apercevoir quelques détails à l'intérieur.

On voit, en comparant ces deux figures à la FIG. **57**, qui représente une tête à l'état normal, que la forme générale est autre : elle est devenue plus courte et trapue, le vertex n'est plus visible sur le contour que comme une petite épine surgissant au milieu du bord antérieur. Mais grâce à la transparence de l'exosome, on peut constater dans les deux cellules que le contour du vertex se continue avec celui de l'endosome, qui peut être suivi jusque tout près du fond du calice formé par l'exosome. L'endosome n'est plus, comme dans les cas normaux, appliqué contre l'exosome sur toute la longueur de celui-ci, mais s'en est détaché, et l'on voit nettement la fente angulaire qui l'en sépare. Dans la FIG. **59**, le contour de l'endosome se continue sans changer de direction jusqu'au fond de l'exosome ; il s'agit

[1] LEYDIG, en diverses publications, résumées dans son *Zelle und Gewebe*, 1885. Chap. V.

donc ici d'un décollement sur toute la longueur, provoqué par une simple contraction de l'endosome, et non d'une invagination proprement dite. Mais dans la FIG. **58**, ce contour change de direction à mi-chemin et, se portant en dehors, remonte de nouveau au niveau d'une ligne semicirculaire estompée qui traverse la tête, expression évidente de l'existence de deux feuillets mis en contact par une invagination formelle de l'endosome.

Ces images, très variables quant aux détails, sont assez répandues dans les préparations. Il semblerait qu'à la rigueur on ne doit pas les considérer comme des anomalies, mais seulement comme l'expression d'un certain état tonique de la tête. Elles montrent à l'évidence que nous sommes absolument fondé à considérer la tête comme composée d'un exosome entourant un endosome, et non comme formée d'un segment principal ou « Hauptstück », auquel serait appliqué antérieurement une pièce terminale, « acrosome » ou « perforatorium ».

La fig. 9 du travail de VON KORFF (op. cit. dans l'introduction) montre, apparemment, une tête à l'état invaginé.

Ces têtes se trouvent dans les cellules vivantes aussi bien que dans le matériel fixé; la FIG. **65** en est un exemple. Elles ne sont donc pas dues à l'action des réactifs. Dans les préparations de matériel fixé, on trouve aussi, quelquefois en grand nombre, des têtes montrant les formes de gonflement ou de contraction les plus bizarres, dues évidemment aux réactifs employés. Il suffira d'en reproduire une qui présente quelque intérêt, FIG. **78** et **79**.

Les têtes représentées dans ces figures se trouvent dans du matériel fixé dans un mélange (fait à titre d'essai, et qui ne vaut rien) d'acide osmique, acide nitrique et acide acétique. On voit qu'elles forment la contrepartie des têtes à endosome invaginé. L'exosome, au lieu d'être dilaté ou au moins avoir conservé sa grandeur naturelle, est énormément contracté et réduit à l'état d'un simple anneau épais. L'endosome au contraire est plutôt gonflé et sort presque entièrement de l'exosome sous la forme d'un cône parfaitement clair. Les cellules auxquelles ces têtes appartiennent sont loin d'être achevées, mais on retrouve le même phénomène dans des spermatozoïdes parfaitement évolus, l'exosome y étant réduit à l'état d'un tout petit corps cordiforme, et l'endosome ayant disparu entièrement.

Des têtes semblables à celles des FIG. **78** et **79** ont été données comme normales par GODLEWSKI et par NUSBAUM (op. cit. dans l'introduction).

Elles font entièrement défaut dans les cellules vivantes et dans le matériel bien fixé.

La littérature récente de la spermatogénèse contient de nombreuses descriptions de dimorphisme ou polymorphisme de spermatozoïdes. Si l'on voulait accepter comme normales toutes les formes de tête que l'on trouve dans les coupes de l'ovotestis de l'escargot, il faudrait établir pour cet animal non deux, mais une demi-douzaine de formes de spermatozoïdes. Mais parmi les cellules vivantes, on n'en trouve qu'une.

C. *Les noyaux à queue.*

Ces malformations, assez répandues dans les coupes, peuvent induire en erreur l'observateur qui ne les connaît pas. Les FIG. **66** à **69** montrent quatre noyaux en cet état. La FIG. **66** est un noyau très jeune, au stade des FIG. **4** à **6** environ; la FIG. **67** est un noyau un peu plus avancé, au stade de la FIG. **9** environ; et les FIG. **68** et **69** sont des stades de la fin de la figure de Saturne, comme les FIG. **37** à **44**. Les deux premières de ces figures montrent le noyau étiré en une pointe très longue, ou filament droit, qui se colore en noir par l'hématoxyline au fer au même titre que la nucléine. Dans les deux autres cellules, on observe la même pointe, mais beaucoup plus robuste, ce qui paraît montrer qu'elle s'est accrue avec l'évolution de la cellule. Dans les FIG. **66** et **67**, la pointe, étant très grêle et filiforme, fait à première vue l'impression d'être un endostyle, et si, comme c'était le cas pour ces deux cellules, le véritable endostyle n'est pas visible en même temps, on peut facilement être induit en erreur de cette façon. Les FIG. **68** et **69** montrent qu'il n'en est pas ainsi, les endostyles y étant visibles en même temps que l'appendice pointu.

Les noyaux dessinés ne donnent nullement une idée exagérée des dimensions de ces appendices; il y en a qui sont deux ou trois fois plus longs. On remarque que cette malformation a une tendance à envahir toutes les cellules d'une colonie, sans que, à part cette particularité, les cellules paraissent altérées d'une façon sensible.

Je n'ai pas pu suivre le sort des noyaux à queue au-delà du stade des FIG. **68** et **69**; et je n'ai pas pu établir la cause de la malformation.

J'interprète la forme pointue des noyaux des FIG. **41** à **44** comme étant un cas moins accentué de cette malformation. Peut-être ces noyaux sont-ils en train de revenir à l'état normal.

D. *Les spermatides géantes.*

Elles sont très rares chez l'escargot. Elles se forment, toujours, par la suppression de la plasmodiérèse lors de la division d'un spermatocyte, et la fusion subséquente des noyaux, des pôles, des Nebenkerne et des hyaloplastes de la spermatide syncytiale ainsi produite.

La forme la plus répandue représente la fusion de deux spermatides; mais j'en ai vu qui montraient huit noyaux et quatre endostyles en train de se fusionner, et résultant évidemment de la fusion par paires de huit endostyles.

La FIG. **70** montre une spermatide géante au stade de Saturne jeune, soit le stade de la FIG. **31** par exemple. On voit que les deux noyaux se sont fusionnés entièrement, de même que les deux Nebenkerne. Les deux endostyles en formation sont encore contenus dans le Nebenkern composé, mais ne se sont pas encore fusionnés. Ils sont parallèles et ne se touchent que par les deux godets issus des corpuscules polaires. Les corpuscules antipolaires ne sont pas visibles dans la coupe; je crois les reconnaître dans la coupe suivante. Les deux hyaloplastes sont fusionnés en un seul anneau de Saturne et on reconnaît à gauche de l'anneau la coupe, très délicate, des tours de l'exospire.

La FIG. **71** est une cellule semblable, de la même colonie. On remarquera le Nebenkern composé, encore un peu bilobé. A gauche, on voit un seul corpuscule antipolaire. Il est de la même taille que ceux des spermatides normales de cette colonie. On reconnaît aussi, à gauche du noyau, deux hyaloplastes antipolaires, qui ne sont pas encore fusionnés, et qui entrent ensemble dans la fente saturnienne. A droite du noyau, on voit la coupe de l'anneau saturnien, qui paraît être unique, d'où l'on peut conclure qu'à ce niveau les hyaloplastes se sont fusionnés. On y reconnaît les coupes optiques des spires de l'exospire naissant.

La FIG. **72** représente également une spermatide à deux noyaux fusionnés. Elle est au stade de la FIG. **48**, c'est-à-dire au stade du noyau en champignon. On voit que les deux endostyles sont très rapprochés l'un de l'autre, qu'ils sont indépendants vers le noyau et vers les corpuscules caudaux, mais qu'à mi-chemin entre ces deux points ils sont fusionnés ensemble.

La FIG. **73** montre une autre cellule à deux noyaux fusionnés, de la même colonie et du même stade, à un grossissement un peu plus fort, 1800 diamètres au lieu de 1500. Les deux endostyles sont largement sépa-

rés vers le noyau, mais complétement fusionnés vers le pôle; et leurs deux corpuscules caudaux se sont confondus en un godet terminal géant, accompagné d'un anneau satellite également géant. Comme pour la figure précédente, l'exolemme est tout juste visible, mais je n'ai pas pu déterminer s'il est unique ou s'il y en a encore deux là où les endostyles sont encore séparés.

A gauche, on voit un corpuscule antipolaire, de taille normale, réuni au noyau par un exolemme unique. On peut en conclure qu'un des deux corpuscules antipolaires a été en retard pour effectuer son entrée dans le noyau.

Les FIG. **74** à **76** montrent des têtes géantes achevées (de l'*H. hortensis*). Celle de la FIG. **74** montre quatre cavités cotyloïdes. L'une d'elles est à situation très anormale, car elle est placée sur le bord de la tête, à gauche, en dehors de la base. Les trois autres sont dans la base; une d'elles, en haut, est double, c'est-à-dire, paraît être formée de deux cavités confluentes. Cette tête serait donc formée par la réunion de cinq éléments. La tête se présente en raccourci, sans quoi elle aurait un contour normal.

La FIG. **75**, d'une tête également vue très fortement en raccourci, montre trois cavités cotyloïdes, placées sur la marge de la base de la tête. Il y a également trois endostyles.

La FIG. **76** est certainement une tête géante, d'après sa taille et sa forme. Elle provient de la même préparation que les deux précédentes. Ici il n'y a qu'une seule cavité cotyloïde, très grande, avec un endostyle géant.

La FIG. **77** est une tête normale, de la même préparation, pour permettre d'en comparer la taille avec celle des têtes géantes (toutes les têtes sont très petites dans la préparation qui a donné ces figures).

Les cellules auxquelles ces têtes appartiennent sont presque achevées dans leur évolution, mais pas entièrement; je n'ai jamais vu de spermatozoïde géant parfaitement achevé chez l'escargot.

Chapitre VIII.

Résumé et additions.

La spermatide nouvellement formée montre la nucléine de son noyau arrangée autour d'un axe matériel, l'hyaloplaste.

L'hyaloplaste est déjà muni, à son extrémité polaire, d'un corpuscule qui est le point de départ du bouton caudal de la spermatide.

Il se forme bientôt à l'autre extrémité de l'hyaloplaste un corpuscule homologue, le corpuscule antipolaire, qui devient le plateau antérieur du cylindraxe. En conséquence, ce plateau avec ses dépendances, le prolongement odontoïde et les insertions des endostyles, ne dérive ni directement ni indirectement du corpuscule polaire.

L'axe, probablement creux, de l'hyaloplaste se remplit entre ces deux points d'une matière sidérophile et devient l'endostyle primaire.

Le mode de formation de l'endostyle accessoire demeure problématique.

L'exolemme se forme par une différentiation de la couche extérieure de l'hyaloplaste, et non point par un agencement des trabécules du réticulum cytoplasmique, ni par un agencement de «cytomicrosomes» ou mitochondries».

L'endolemme se forme vraisemblablement par une différentiation de la couche intérieure de l'hyaloplaste autour de l'endostyle naissant.

L'hyaloplaste, pendant qu'il se différentie en ces formations, croît énormément, et pendant les jeunes stades sa portion intranucléaire, en se dilatant, devient visible dans le noyau sous la forme d'une bande équatoriale qui produit l'image de «l'anneau de Saturne», la spermatide présentant en effet à ce moment l'image de la planète Saturne.

Le noyau nouvellement formé est situé au pôle de la spermatide, c'est-à-dire dans la région de la cellule la plus éloignée de la cellule basale de la colonie. Plus tard, on observe toujours que tous les noyaux d'une colonie sont venus se placer aussi près que possible de la cellule basale (fig. 30 des *Nouvelles recherches*). Il est évident que cette translation des noyaux est due à l'élongation de l'hyaloplaste. Le noyau au début est comme suspendu autour de l'hyaloplaste. L'extrémité polaire de celui-ci trouve un point fixe contre la membrane cellulaire; en conséquence, lorsqu'il s'allonge, il trans-

porte le noyau avec lui, l'éloigne du pôle, et le pousse dans la région antipolaire, qui se trouve être celle qui avoisine la cellule basale. Il serait donc superflu d'invoquer, pour expliquer cette migration des noyaux, un «caryotaxis» ou «tactisme» quelconque.

Le bouton caudal des spermatides peut être muni d'un cil. Ce cil paraît être une formation très variable et inconstante. Il peut être minuscule ou puissant au point d'atteindre une longueur de deux à trois cents microns. Il est formé par une substance liquide qui sort d'un pore qui existe dans le bouton caudal, et se solidifie ensuite, mode de formation identique à celui qui a été décrit par LEYDIG pour les cils et autres appendices de certaines cellules sensorielles.

Ce cil disparaît avant l'achèvement du spermatozoïde, et le bouton caudal se transforme en le bouchon caudal du spermatozoïde.

La tête résulte évidemment d'une modification du noyau. L'exosome paraît être formé par une sorte de gélification de la nucléine. L'endosome peut en dériver aussi, mais sa formation demeure toujours entourée de beaucoup d'obscurité. Le mode de formation des côtes en spirale de l'exosome n'a pas été découvert.

On se rappellera que la portion exserte de l'endosome chez les spermatozoïdes adultes est souvent terminée par un petit bouton un peu plus réfringent que le reste (*La structure du spermatozoïde*, p. 85, et fig. 16, 20, 28). Un petit bouton semblable existe souvent, sinon toujours, sur le noyau des spermatides à partir du stade de noyau cordiforme, FIG. **52**, **53**, **54**, **56**. Je ne sais par quel procédé il se forme : peut-être n'est-il que les restes ratatinés d'un filament procéphalique en lequel l'endosome se prolonge souvent. Je pense que ces filaments sont des formations temporaires, des pseudopodes que la spermatide envoie dans le cytoplasme de la cellule basale pour les besoins de la nutrition. On en observe souvent de fort longs, mais il est difficile d'en obtenir des images irréprochables, parce qu'ils se confondent facilement avec les trabécules du cytoplasme des cellules basales, ces trabécules étant très souvent régulièrement orientées en traînées parallèles dirigées vers les noyaux des spermatides [«Copulationsfäden» de BENDA (1)]. J'ai représenté un de ces pseudopodes, fig. 30 et 31 de la Planche du mémoire *La structure du spermatozoïde*. L'opinion des auteurs qui font dériver ce bouton d'un nucléole de la spermatide (qui

(1) BENDA : Verh. d. physiol. Gesellschaft Berlin, 1897-1898, Nr 14-17, Aug. 1898.

n'existe pas), ou d'un « centrosome », ne paraît pas reposer sur des faits précis.

Il a été montré, Chap. VI, que pendant les derniers stades de sa transformation la spermatide se dépouille graduellement de son cytoplasme, de sorte que le spermatozoïde achevé n'en possède pas même le plus faible revêtement. L'histoire de son évolution explique donc la conclusion déjà énoncée dans *La structure du spermatozoïde*, à savoir que « le spermatozoïde ne contient plus aucune trace de cytoplasme, mais est entièrement histologiquement différentié dans toutes ses parties ». De plus, elle nous oblige à conclure que le spermatozoïde de l'escargot n'est pas même une cellule histologiquement différentiée. Il n'est qu'un noyau différentié; son corps ayant été formé tout entier par l'hyaloplaste, qui n'est autre chose que l'axe du noyau de la spermatide, et sa tête ayant été formée par le reste de ce noyau.

EXPLICATION DES FIGURES.

LÉGENDE. *Nk*, Nebenkern; *m. f.*, moignon fusorial; *c. a.*, corpuscule antipolaire. L'expression *même prép.* veut dire *même mode de préparation*, mais non pas nécessairement même coupe ou même bloc de paraffine, ni même matériel provenant d'un même escargot.

PLANCHE I.

FIG. **1**. Spermatide aussitôt après la reconstruction du noyau × 1500. Anneau polaire composé de microsomes; rayons du fuseau pas encore agglomérés en Nebenkern; l'hyaloplaste passe au milieu d'eux, il montre déjà l'ébauche de l'exospire. *c a.*, le corpuscule antipolaire. A gauche, *a*, le corpuscule antipolaire × 3000; à droite, *b*, l'anneau polaire et pôle de l'hyaloplaste × 3000. Formol picrique de Bouin, hématoxyline ferrique, Säurefuchsin.

FIG. **2**. Spermatide un peu plus avancée × 1500. Nebenkern formé, hyaloplaste montrant l'exospire. *c. a.*, corpuscule antipolaire au sommet de l'hyaloplaste antipolaire. Formol picrique, hématoxyline ferrique, Säurefuchsin avec orange G.

FIG. **3**. Spermatide au même stade environ × 1500. On voit deux granules à la surface du Nebenkern, au lieu d'un seul. Hyaloplaste polaire avec ébauche d'exospire. *c. a.*, corpuscule antipolaire. Même prép. que FIG. **1**.

FIG. **4**. Spermatide un peu plus avancée × 1500. Au sommet du Nebenkern on voit, au lieu d'une épine fusoriale indivise, deux granules, dont le plus extérieur se prolonge en un cil. Formol picrique, hématoxyline ferrique.

FIG. **5**. Spermatide au même stade × 1500. L'hyaloplaste est sorti du Nebenkern. Même prép. que FIG. **1**.

FIG. **6**. Cellule au même stade × 1500. Hyaloplaste sorti du Nebenkern. Il porte deux granules, l'extérieur aplati en disque. A gauche, *a*, l'hyaloplaste × 3000, montrant l'exospire et l'ébauche de l'endostyle. A droite, *b*, le corpuscule antipolaire × 3000. Même prép. que FIG. **5**.

FIG. **7**. Nebenkern d'une cellule au même stade × 1500. L'hyaloplaste n'est pas sorti. Il est coiffé par 3 granules, dont un cilié. A gauche, les trois granules × 3000. Liquide fort de GILSON (mélange CARNOY-LEBRUN), hématoxyline ferrique.

FIG. **8**. Objet semblable × 1500, même prép.

FIG. **9**. Spermatide un peu plus avancée × 1500. *c. a.*, le corpuscule antipolaire, très grand. A gauche, *a*, le corpuscule antipolaire × 3000. Même prép. que FIG. **7**.

FIG. **10**. En *a*, noyau (en contour), hyaloplaste antipolaire et corpuscule antipolaire d'une spermatide de ce stade × 1500. En *b*, *c*, *d* et *e*, quatre corpuscules antipolaires de la même colonie × 3000. Même prép. que FIG. **2**.

FIG. **11**. Noyau (en contour) et hyaloplaste antipolaire, même stade × 1500. Même prép. que FIG. **2**.

FIG. **12**. En haut, noyau, hyaloplaste et corpuscule antipolaire, même stade × 1500. En *a*, le corpuscule × 3000. En *b*, autre corpuscule antipolaire de la même colonie × 3000. Même prép. que FIG. **7**.

FIG. **13**. Neuf corpuscules antipolaires de la même colonie que la cellule FIG **9** × 3000. Voir texte, p. 419.

FIG. **14**. Corpuscules antipolaires d'une colonie au stade de la FIG. **6** × 3000. Notez la diversité de taille des corpuscules. Voyez texte, p. 418. Même prép. que FIG. **1**.

FIG. **15**. Deux corpuscules antipolaires de la même colonie que la FIG. **9**. × 3000.

FIG. **16**. Spermatide au stade de la FIG. **9** × 1500, montrant l'hyaloplaste antipolaire plus avancé que l'hyaloplaste polaire. Même prép. que FIG. **7**.

FIG. **17**. Cellule semblable × 1500. Liquide de FLEMMING, hématoxyline ferrique.

FIG. **18** à **20**. Nebenkern d'une spermatide du même stade × 1500. FIG. **18**, *focus* moyen (coupe optique), FIG. **19**, *focus* inférieur, FIG. **20**, *focus* supérieur, pour montrer que l'ébauche de l'endostyle passe bien à travers le Nebenkern. Même prép. que FIG. **17**.

FIG. **21**. Nebenkern et noyau, même stade × 1500, même prép.

FIG. **22**. Spermatide à un stade un peu plus avancé × 1500. Figure de Saturne. Même prép. que FIG. **17**.

FIG. **23**. Objet semblable × 1500. Figure de Saturne. Même prép. que FIG. **17**.

FIG. **24**. Noyau, endostyle et hyaloplaste polaire × 1500. Figure de Saturne. Même prép. que FIG. **17**.

FIG. **25**. Objet semblable × 1500. Même prép.

FIG. **26**. Objet semblable × 1500. Même prép.

FIG. **27**. Objet semblable × 1500. Continuité de l'hyaloplaste avec l'anneau de Saturne. Même prép que FIG. **17**.

FIG. **28**. Spermatide, même stade × 1500, montrant la continuité de l'hyaloplaste polaire avec l'hyaloplaste antipolaire à travers la fente saturnienne. Même prép que FIG. **17**.

FIG. **29**. Spermatide, même stade × 1500, montre l'hyaloplaste antipolaire sortant de la fente saturnienne. Même prép.

FIG **30**. Noyau et hyaloplaste, même stade × 1500. Figure de Saturne. Même prép. que FIG. **4**.

FIG. **31**. Objet semblable × 1500. A gauche, le corpuscule antipolaire × 3000. Même prép. que FIG. **7**.

FIG. **32**. Objet semblable × 1500. Même prép. que FIG. **4**.

FIG **33**. Objet semblable, l'anneau de Saturne vu en profil × 1500. Même prép. que FIG. **17**.

FIG. **34**. Objet semblable, l'anneau de face × 1500. Même prép.

FIG. **35**. Id., id. × 1500. Même prép.

FIG. **36**. Spermatide, même stade × 1500. *c. a.*, corpuscule antipolaire engagé dans la fente saturnienne. Même prép. que FIG. **4**.

FIG. **37**. Spermatide plus avancée × 1500. Même prép.

FIG. **38**. Spermatide, même stade × 1500. A droite, *a*, le corpuscule antipolaire × 3000. Même prép. que FIG. **1**.

FIG. **39**. Noyau et endostyle d'une spermatide un peu plus avancée × 1500.

FIG. **40**. Objet semblable × 1500, montrant l'endostyle enroulé autour du noyau par suite de la rotation de celui-ci. Même prép.

FIG. **41**. Objet semblable × 1500. Enroulement plus complet. Même prép.

FIG. **42**. Id., id.

FIG. **43**. Id., id.

FIG. **44**. Id., id.

FIG. **45**. Id., id., début du déroulement.

FIG. **46**. Id. Le déroulement achevé. *c. a.*, corpuscule antipolaire engagé dans la fente saturnienne.

FIG. **47**. Id., le noyau s'est redressé.

PLANCHE II.

FIG. **48**. Spermatide plus avancée, début du stade fungiforme × 1500 A droite, le plateau cervical avec le prolongement odontoïde × 3000. Même prép. que FIG. **1**.

FIG. **49**. Noyau d'une spermatide de ce stade × 1500. A droite, le plateau cervical × 3000. Même prép.

FIG **50**. Trois études de noyaux au stade fungiforme × 1500 *a*, coupe un peu latérale; *b*, coupe passant par le centre; *c*, idem, le pôle s'étirant en pointe pour former le vertex de la tête Agencement de la nucléine en cordons méridiens. Même prép. que FIG. **4**.

FIG. **51**. Vue de la base d'un noyau au stade fungiforme × 1500. A droite, le plateau cervical × 3000 Même prép. que FIG. **1**.

FIG. **52**. A gauche, noyau au début du stade cordiforme × 1500. La nucléine confluente à la base pour former l'exosome. Granule pointu sur le vertex. A droite, en haut, le vertex × 3000; en bas, le plateau cervical × 3000. Même prép. que FIG. **4**.

FIG. **53**. Noyau au stade cordiforme un peu plus avancé × 1500. Même prép que FIG. **4**

FIG. **54**. Noyau (stade cordiforme plus avancé) avec une portion du cylindraxe et de l'exolemme × 1500. FIG. **54**, *a*, le cylindre-axe et l'exolemme de la figure précédente × 3000. Entre l'endostyle et l'exolemme, on voit le contour de l'endolemme. Même prép. que FIG. **2**.

FIG. **55** Spermatide au stade de noyau cordiforme, vivante × 1500.

FIG. **56**. Noyau de ce stade, frais dans la lymphe de l'animal, en coupe optique × 1500. Le noyau est fortement gonflé.

FIG **57**. Tête et portion de l'endostyle d'une spermatide vivante × 1500. La tête devenue subulée, l'endostyle montre des brisures rectilignes. Forme normale de la tête.

FIG. **58**. Tête à vertex invaginé × 3000. Acide picro-osmique de VOM RATH, hématoxyline ferrique, Säurefuchsin.

FIG. **59**. Tête à vertex invaginé × 3000. Même prép.

FIG. **60**. Trois études du bouton caudal de spermatides vivantes au stade des FIG. **78** à **81** × 1500.

FIG. **61**. Deux études du bouton caudal de spermatides macérées un jour dans la lymphe de l'animal × 1500. Les boutons sont gonflés.

FIG. **62**. En *a*, bouton caudal d'une spermatide géante × 1500. En *b*, bouton d'une spermatide normale de la même colonie × 1500. Même prép. que FIG. **1**.

FIG. **63**. Quatre études du bouton caudal de spermatides au stade de sac allongé (FIG. **82**, par exemple) × 3000. L'anneau proximal se présente comme un entonnoir obliquement placé; il est vu de face en *c*, et de côté en *a*, *b* et *d*. En *a* et *b*, on voit le contour de l'exolemme. En *a* et *d*, un renflement accessoire entre l'entonnoir et le godet terminal Même prép. que FIG. **26**.

FIG. **64**. Deux études du bouton caudal de spermatides macérées × 1500. Les boutons gonflés et déformés.

FIG. **65**. Spermatide vivante (ou agonisante), après séjour de 30 minutes dans la lymphe de l'animal, × 1500. Elle est fortement gonflée. Tête à vertex invaginé. Une portion seulement du cil terminal a été dessinée, voir le texte p 429. *b. c.*, bouton caudal.

FIG. **66**. Noyau anormal, début de la forme à queue × 1500. Même prép. que FIG. **26**.

FIG. **67**. Noyau à queue un peu plus avancé × 1500. Même prép.

FIG. **68**. Noyau à queue plus avancé, montrant l'endostyle × 1500. Même prép.

FIG. **69**. Noyau à queue, même stade, endostyle enroulé × 1500. Même prép.

FIG. **70**. Spermatide géante × 1500. Stade de Saturne. Noyaux et Nebenkerne fusionnés, endostyles rapprochés, mais pas encore fusionnés. Même prép. que FIG. **7**.

FIG. **71**. Spermatide géante de la même colonie, stade de Saturne × 1500. Noyaux et Nebenkerne fusionnés, endostyles se fusionnant près du noyau, hyaloplastes antipolaires libres.

FIG. **72**. Spermatide géante, stade de champignon × 1500. Les deux endostyles fusionnés au milieu de leur longueur, libres ailleurs. Même prép. que FIG. **7**.

FIG. **73**. Spermatide géante, stade de champignon × 1800. Nebenkerne fusionnés. Endostyles libres vers le noyau, fusionnés vers l'extrémité caudale, les boutons caudaux fusionnés en un bouton géant Un seul hyaloplaste antipolaire visible. Même prép.

FIG. **74**. Tête géante de spermatide (de l'*H. hortensis*) presque entièrement évoluée × 1500. Cinq cavités cotyloïdes, dont une latérale Tête vue en raccourci. Même prép. que FIG. **26**.

FIG. **75**. Tête géante (de l'*H. hortensis*) × 1500. Trois cavités cotyloïdes. Même prép.

FIG. **76**. Tête géante (de l'*H. hortensis*) × 1500, vue en raccourci. Une seule cavité cotyloïde géante. Même prép.

FIG. **77**. Tête normale de la même colonie que les précédentes × 1500.

FIG. **78**. Spermatide au stade de sac allongé × 1500. Forme anormale de la tête due à l'action du fixateur. Acide nitro osmique. Hématoxyline ferrique.

FIG. **79**. A gauche, tête anormale semblable × 1500. A droite, le plateau cervical × 3000. Même prép.

FIG. **80**. Spermatide plus avancée × 1500, montrant un capuchon céphalique. Même prép. que FIG. **58**.

FIG. **81**. Spermatide plus avancée × 1500. Début de la disparition du cytoplasme vers la tête. Acide picro-acétique, hématoxyline ferrique.

FIG. **82**. Spermatide encore plus avancée × 3000. En haut, au-dessus du trait *cy*, le cytoplasme a disparu. L'exolemme, qui entoure l'endostyle, est évidemment contenu *dans* le cytoplasme là où celui-ci existe encore. Même prép que FIG. **1**.

FIG. **83**. Extrémité postérieure d'une spermatide de la même colonie × 3000. Le bouton caudal réduit au seul godet distal, l'anneau proximal ayant disparu. Exolemme s'insérant sur le godet. Membrane cellulaire soulevée.

TABLE DES MATIÈRES.

Introduction 401

Chapitre I. Le noyau sphérique et le noyau en Saturne 404

Chapitre II. Le Nebenkern. 407

Chapitre III. La portion polaire de l'hyaloplaste 410

Chapitre IV. Le corpuscule antipolaire 415

Chapitre V. La portion antipolaire de l'hyaloplaste 420

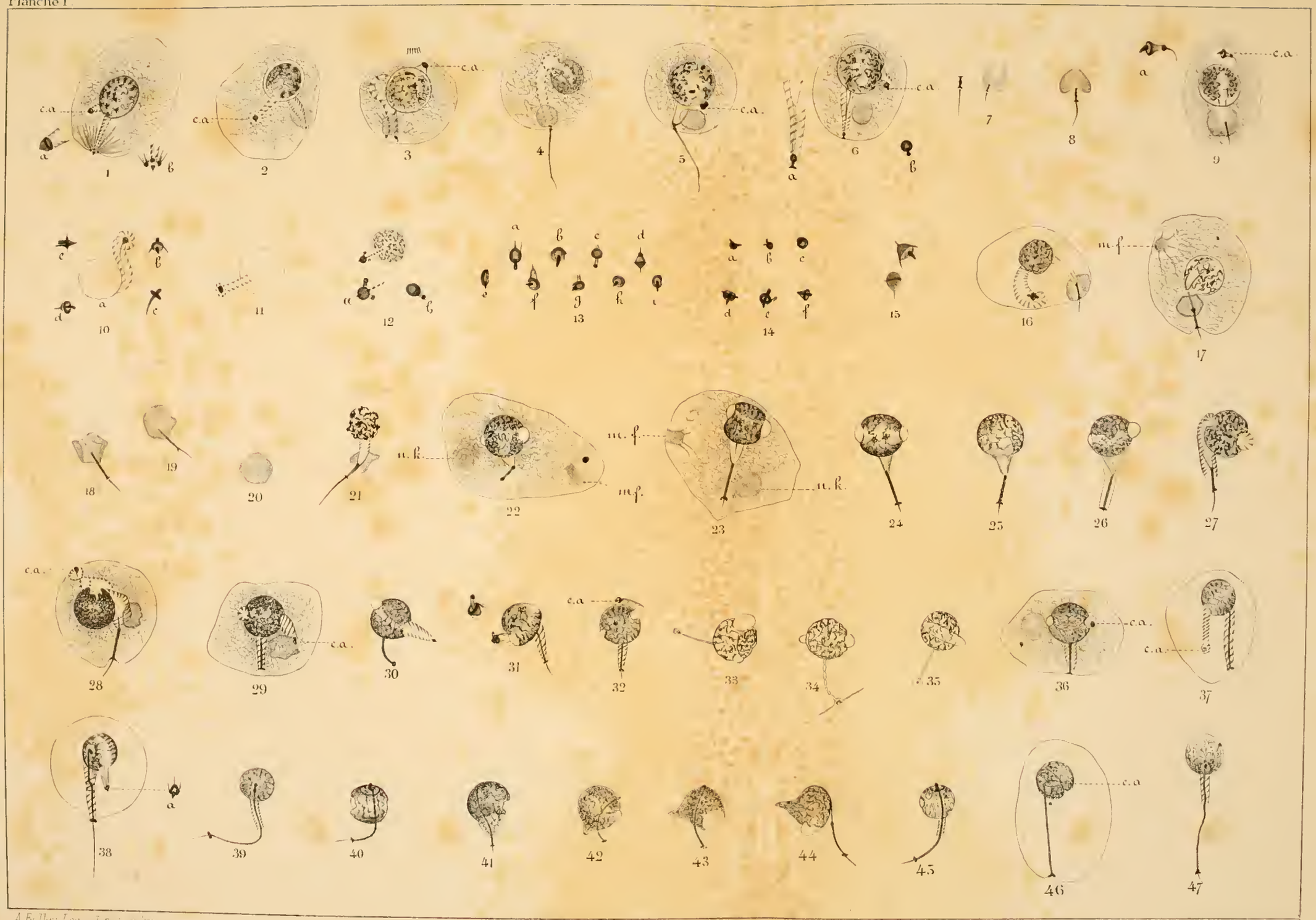
Chapitre VI. Stades ultérieurs 424

Chapitre VII. Quelques anomalies 429

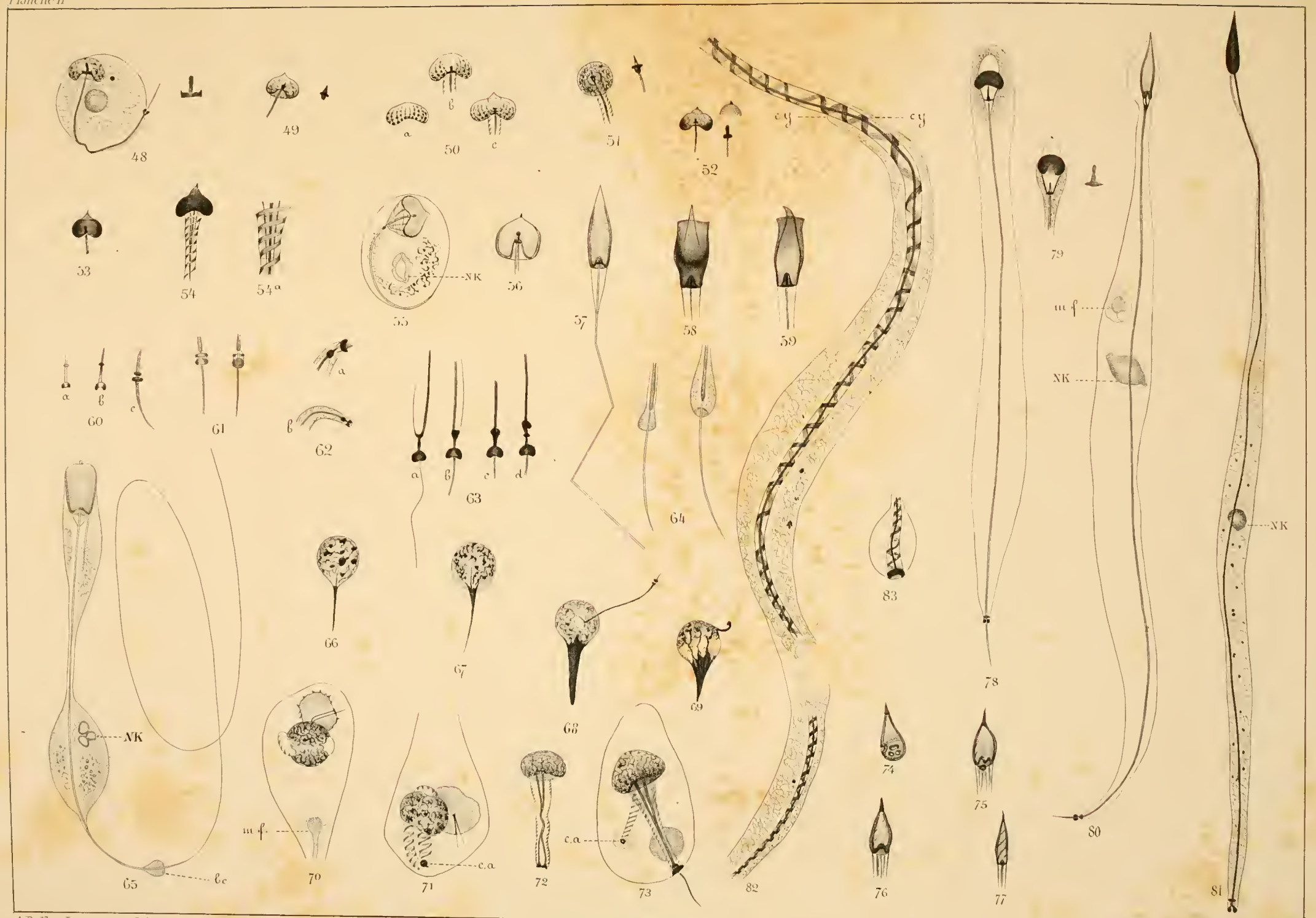
Chapitre VIII. Résumé et additions 436

Explication des figures 439

Planche I.



A. Fellner Lith. Inst. Wien



A.Bolles Lee ad nat. delin.

Lith. De Tollenaere Frères Brux.

F. Swennen, s. lith.

TABLE DES MATIÈRES DU TOME XXI.

I. La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes dans les cinèses somatiques, par Victor Grégoire & A. Wygaerts . 5

II. La structure du spermatozoïde de l'Helix pomatia, par A. Bolles Lee. 77

III. Étude sur les histones, par Fernand Malengreau . . . 119

IV. La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogénèse végétale, par Jules Berghs 171

V. La figure achromatique dans le Pellia epiphylla, par Victor Grégoire & Jules Berghs. 191

VI. Production artificielle de larves géantes et monstrueuses dans l'Arbacia, par F. A. Janssens 245

VII. La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation, par Victor Grégoire 295

VIII. L'élément nucléinien pendant les divisions de maturation dans l'œuf de l'Aplysia punctata, par F. A. Janssens & G. A. Elrington . 315

IX. La disparition du bios de Wildiers dans les cultures de levure, par le Dr Abel Amand. 327

X. Reconstitution du noyau et formation des chromosomes dans les cinèses somatiques de la larve de Salamandre, par Joseph Kowalski. 347

XI. La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogénèse végétale. II. Depuis la sporogonie jusqu'au spirème définitif, dans la microsporogénèse de l'Allium fistulosum, par Jules Berghs . 381

XII. L'évolution du spermatozoïde de l'Helix pomatia, par A. Bolles Lee. 399

MBL/WHOI LIBRARY
WH 19TI K

19